

ÜBER DIE FIBRINOLYTISCHE AKTIVITÄT
VON HUMANPLASMA UNTER VERSCHIEDENEN
LAGERUNGSBEDINGUNGEN, GEMESSEN MIT
DER STANDARDPAPIERFIBRINOLYSE

BARBARA BEITINGER

1973



Dipl.-Kfm. A. Koch
(Kurfürstendruck)
8 München 23
Clemensstraße 27
Telefon 342149



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41553807_0047

Aus der Medizinischen Poliklinik der Universität München

Direktor: Professor Dr. W. Seitz

Über die fibrinolytische Aktivität von Humanplasma
unter verschiedenen Lagerungsbedingungen,
gemessen mit der Standardpapierfibrinolyse

Inaugural - Dissertation
zur
Erlangung der Doktorwürde
in der
gesamten Medizin
verfaßt
und einer
Hohen Medizinischen Fakultät
der
Ludwig-Maximilians-Universität
zu München

vorgelegt von
Barbara B e i t i n g e r
aus Brannenburg

München 1973



Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Berichterstatter: Professor Dr. N. Goossens
Mitberichterstatter: Professor Dr. W. Seitz
Dekan: Professor Dr. W. Spann

Tag der mündlichen Prüfung: 13.3.1973

Meinen Eltern

Mein besonderer Dank gilt Herrn Professor Dr.med.
N. Goossens für die Anregung zu diesem Thema, sowie
für sein großes Interesse am Fortgang der Arbeit.

Inhaltsverzeichnis

	Seite
I. <u>Allgemeiner Teil</u>	1
1. Einleitung	
2. Werdegang der Fibrinolyseforschung	2
3. Physiologie der Fibrinolyse	5
A. Definition	
B. Wirkungsmechanismus	
a. Aktivatorbereitstellung	
b. Plasminogenaktivierung	8
c. Fibrinspaltung durch Plasmin	
d. Inhibitoren	9
C. Bedeutung der Fibrinolyse	11
4. Fibrinolytische Therapie	13
A. Fibrinolytika	
B. Indikationen der fibrinolyt. Therapie	14
C. Kontraindikationen der fibrinolyt. Therapie	15
II. <u>Experimenteller Teil</u>	16
1. Versuchsanordnung	
A. Bedingungen	
B. Durchführung	17
2. Meßmethoden und Material	20
A. Standardpapierfibrinolyse nach Goossens	
B. Streptokinaseresistenztest nach Fletcher und Deutsch, modifiziert	23
3. Ergebnisse	27
A. Fibrinolytische Aktivität von Frischplasmen nach Aktivierung mit Streptokinase (SK)	
a. Lyse zweier Plasmen gleichen Antistrepto- kinasetiters (ASK-Titers)	

	Seite
b. Lyse (%) zweier Plasmen verschiedenen Antistreptokinase (ASK) -Titers	32
c. Lyseverlauf der Plasmen bei Aufbewahrung des Standardfibrinpapiers (SFP) unter verschiedenen Bedingungen	37
B. Fibrinolytische Aktivität von Gefrierplasmen nach Aktivierung mit Streptokinase (SK)	41
a. Lyse (%) zweier Plasmen gleichen ASK-Titers	
b. Lyse (%) zweier Plasmen verschiedenen ASK-Titers	43
c. Lyseverlauf der Plasmen bei Aufbewahrung des SFP unter verschiedenen Bedingungen	48
d. Lysevergleich zwischen Einzel- und Misch-plasma	54
C. Vergleich zwischen Frisch- und Gefrierplasmen nach Aktivierung mit SK	57
a. Vergleich der Plasmen der gleichen Person	
b. Vergleich der Plasmen verschiedener Personen	60
c. Lyseverlauf der Plasmen bei Aufbewahrung des SFP unter verschiedenen Bedingungen	63
d. Statistik der Extinktionen Norm E und Papier E der Chargen 50 und 80	66
D. Vergleich des SFP dreier Chargen	71
a. Lyse (%) der Chargen 50, 80, 100	
b. Vergleich der Chargen nach Umrechnung der Lyse (%) in Relativprozent des Ausgangswertes	83
E. Versuche zur Methodik (Fehlerquellen)	104
4. Diskussion	106
5. Zusammenfassung	111
Literaturverzeichnis	113

ABKÜRZUNGEN

A,B,C	Frischplasmen (Einzelplasmen)
a,b,c	Gefrierplasmen (Einzelplasmen), eingefr.Juni 70
m	Gefrierplasma (Mischplasma), eingefr.Juni 70
A,a	Plasmen der gleichen Person
SK	Streptokinase
10 E, 100 E	Internat.Einheiten SK
ASK-Titer	Antistreptokinase-Titer je 0.8 ml Citratblut 1:10 oder je 0.5 ml Citratplasma aus Citratblut 1:5
Zv	Aufbewahrung des SFP bei + 20°C verschlossen
Zu	Aufbewahrung des SFP bei + 20°C unverschlossen
Kv	Aufbewahrung des SFP bei + 4°C verschlossen
Ko	Aufbewahrung des SFP bei + 4°C unverschlossen
SFP	Standardfibrinpapier
Ch 50, 80, 100	Charge 50, Charge 80, Charge 100
Norm E	Extinktion des nicht aktivierten Plasmas
Lyse E	Extinktion des aktivierten Plasmas
Papier E	Extinktion des Chromatographiepapiers (ohne Fibrin)
f.A.	Fibrinolytische Aktivität
fg	Freiheitsgrade
P	Irrtumswahrscheinlichkeit
Statistikabkürzungen siehe Seite 66	

I. ALLGEMEINER TEIL

1. Einleitung

=====

Im gesunden Organismus stehen Blutgerinnung und Fibrinolyse in einem dynamischen Gleichgewicht. Pathologische Veränderungen dieser Systeme können in der Klinik heute auf zwei Arten beeinflusst werden: Die Antikoagulantien verhindern Thrombustbildung, die Fibrinolytika, insbesondere die Streptokinase (SK), lösen bereits gebildete, nicht organisierte Thromben und Emboli.

Für die Kontrolle der Antikoagulantientherapie stehen verschiedene Methoden zur Verfügung (79,81). Vergleichbar einfach zu handhabende, quantitative Methoden zur Messung der fibrinolytischen Aktivität gab es bisher nicht:

Von den mit Rinderfibrinplatten arbeitenden Plasminbestimmungen hat die Methode nach Astrup und Møllertz (9) den Nachteil, daß sie technisch große Anforderungen stellt und nur halbquantitative Ergebnisse ermöglicht, die Methode nach Lassen (60) den Nachteil, daß eine gewisse Denaturierung des Fibrins beim Erhitzen der Platten und eine ungenaue Abgrenzung der Lysehöfe die Auswertung beeinträchtigen.

Goossens et al. (40) inaugurierten 1963 eine quantitativ photometrische Papierfibrinolysemethode. Substrat war ein mit einer dünnen Rinderfibrinschicht bedecktes Chromatographiepapier, das durch kurzes Erhitzen plasminogenfrei gemacht wurde. Die Herstellung des Standardfibrinpapiers war etwas umständlich. Gemessen wurde die Extinktion des mit Streptokinase aktivierten Humanplasmas.

Später (41) diente als Testlösung nicht aktiviertes Plasma (Spontan-Papierfibrinolyse). Nach weiterer Vereinfachung und Standardisierung (113, 99, 88) steht heute die sog. "Standard-fibrinolysemethode" zur Verfügung (42, 43).

Das Standardfibrinpapier (SFP) wird industriell hergestellt^x; als Testlösung kann Streptokinase (SK) - aktiviertes oder nicht aktiviertes Humanplasma verwendet werden. Es läßt sich also die spontane und die totale Lyse (nach SK-Aktivierung) bestimmen. Offen blieben bei den oben angeführten Arbeiten u.a. noch folgende Probleme, deren Bearbeitung wir uns zuwandten:

1. Besteht eine Beziehung zwischen Antistreptokinase (ASK)-Titer und lytischer Aktivität?
2. Wie lange bleibt die fibrinolytische Aktivität eines bei - 30°C eingefrorenen Citratplasmas unverändert?
3. Welche Unterschiede ergeben sich zwischen Frisch- und Gefrierplasma der selben Person?
4. Besteht ein Unterschied zwischen Misch- und Einzelplasma?
5. Welcher Unterschied besteht zwischen Aktivierung mit 10 E SK und der mit 100 E SK?

Von Seiten der Methode:

6. Chargendifferenzen des SFP
7. Veränderung bei verschiedener Aufbewahrung und Haltbarkeit des SFP über einen bestimmten Zeitraum
8. Standardisierung der Entfärbezeit des SFP.

Vor der Beantwortung dieser Fragen soll ein kurzer allgemeiner Überblick über die Fibrinolyse gegeben werden.

2. Werdegang der Fibrinolyseforschung =====

Das Phänomen der Fibrinolyse ist bereits im Altertum bekannt gewesen. Erste Hinweise finden wir bei den Hippokratikern im 4. Jahrhundert v. Chr. Ihnen war aufgefallen, daß bei plötzlichen Todesfällen das Leichenblut flüssig bleibt.

^x Wir danken der Firma Macherey & Nagel/Düren für die Überlassung des Standardfibrinpapiers.

Erneut beschrieb diese Erscheinung erst wieder Morgagni 1761 in seinem Werk "De sedibus et causis morborum, per anatonem indagatis". (Umfassende Darstellungen: 63, 33, 79)

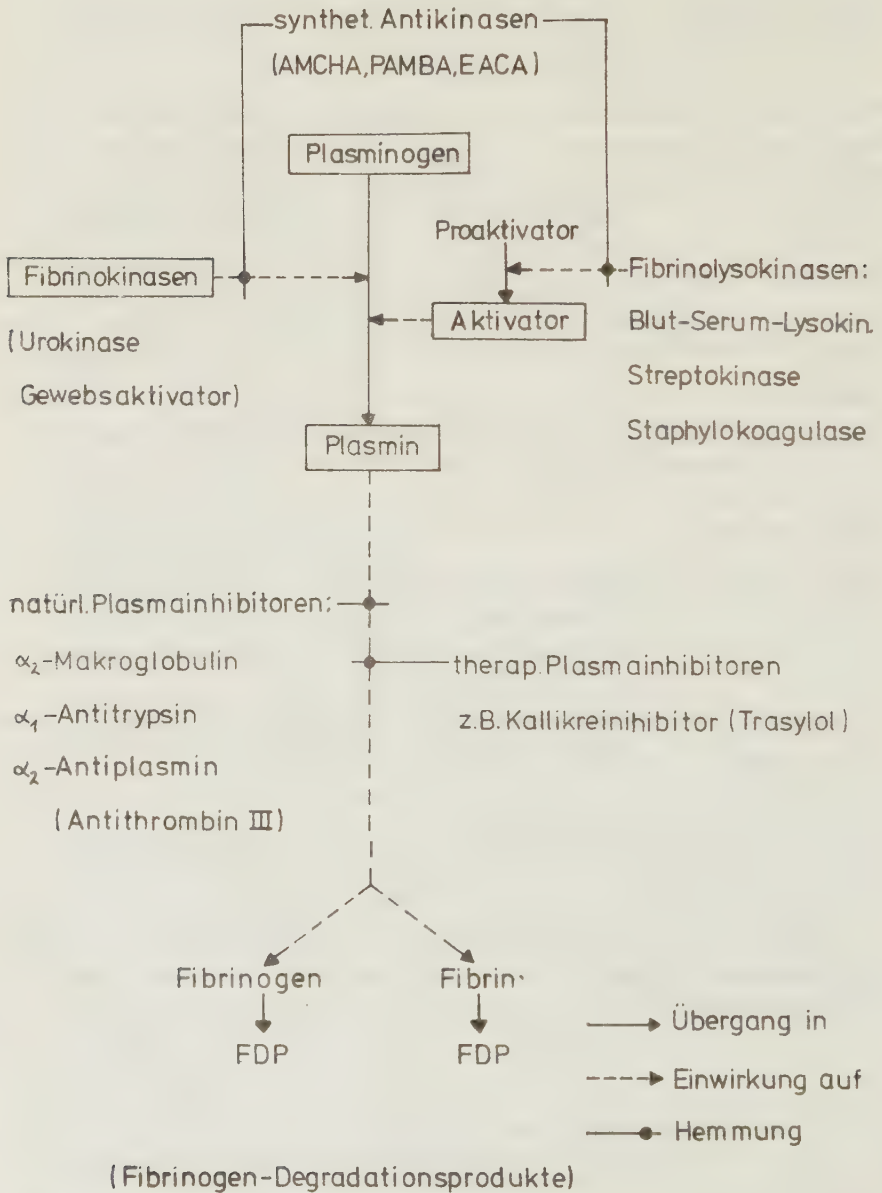
Einen neuen Abschnitt in der Geschichte der Fibrinolyse leitete Denis ein; er beschrieb 1838 als erster die spontane Wiederauflösung von Gerinnseln in vitro. Dastre, der Nachfolger Claude Bernards an der Sorbonne in Paris, untersuchte diese Beobachtung näher. Er stellte 1893 bei Versuchen mit Hunden fest, daß deren Blut auffallenderweise erst nach starkem Aderlaß sich in vitro wieder verflüssigte (27). Diese Fähigkeit des Blutes, ein Fibringerinnsel wieder aufzulösen, bezeichnete er als "Fibrinolyse".

Eine weitere Möglichkeit, Plasmagerinnsel aufzulösen, fanden Tillet u. Garner (106) 1933 in den Filtraten hämolytischer Streptokokken. Bei der Erforschung dieser Wirkung der Streptokokken wurden kurz nacheinander wichtige Entdeckungen gemacht:

Milstone (72) fand 1941, daß reines Fibrin durch Streptokokkenfiltrat nicht lysiert wird, erst nach Zugabe einer kleinen Menge Serumglobulin trat Lyse auf. Das aus den Streptokokken gewonnene Produkt wurde Streptokinase genannt.

Christensen (22) untersuchte dieses Stoffwechselprodukt näher und entdeckte 1945, daß die lyt. Aktivität, ausgelöst durch Streptokinase, auf Plasminogenaktivierung beruht. Einen anderen Mechanismus postulierten Müllertz und Lassen 1953 (70): Die Aktivierung von Plasminogen durch SK erfolgt ihrer Meinung nach indirekt über einen sog. "Proaktivator", eine Theorie, die u.a. auch jetzt noch für möglich erachtet wird. Klinisch wichtig ist die von Tillet (108) 1955 erstmalig i.v. erfolgte Behandlung mit hochgereinigter SK.

Fibrinolyse-System nach MARX, R., 1968 (82)



3. Physiologie der Fibrinolyse

=====

A. Definition

Unter Fibrinolyse versteht man heute die enzymatisch proteolytische Auflösung von Fibringerinnseln im Organismus, z.B. bei kruppöser Pneumonie, Exsudaten und Thrombosen, oder in vitro die Auflösung von Fibrin.

B. Wirkungsmechanismus

Die fibrinolyt. Aktivität ist an ein proteolytisches Ferment gebunden, das Plasmin (Fibrinolysin), welches im Blut als inaktives Proenzym, Plasminogen (Profibrinolysin), vorliegt und durch Kinasen bzw. Aktivatoren, die sowohl im Blut als auch im Gewebe vorkommen, zu Plasmin aktiviert wird (Abb. 1).

a. Aktivatorbereitstellung

Es gibt 2 Möglichkeiten, Plasminogen zu aktivieren:

1. direkt durch die sog. Fibrinokinasen; dazu gehören der Gewebsaktivator und die Urokinase (1, 11, 12);
2. indirekt durch die sog. Fibrinolysokinasen, welche einen inaktiven Proaktivator in einen Plasminogenaktivator (10, 71, 72, 73) umwandeln; dazu gehören die Lysokinasen im Blut und Serum, die Streptokinase und Staphylokoagulase.

ad 1. Plasminogen kann im Blut an alle Stellen des Körpers gebracht werden, die für Blutproteine erreichbar sind. Am Ort einer Verletzung - durch Zellschädigung, Strukturveränderung der Zelloberfläche und vegetative Reize - wird Gewebsaktivator frei, der dann das Plasminogen lokal in Plasmin umwandelt.

Dieser Gewebsaktivator ist infolge seiner Bindung an strukturelle Zellproteine schwer extrahierbar (8). Extraktion und quantitative Bestimmung des fibrinolytischen Gewebsaktivators gelang Astrup mittels Kaliumrhodanidlösung und Säurefällung (12).

Die Lokalisation des Aktivators konnte mittels einer histochemischen Methode, wobei dünne Gefrierschnitte auf einem plasminogenreichen Fibrinfilmm inkubiert werden, bestimmt werden.

Mit Hilfe dieser und anderer Methoden konnten relativ hohe Aktivitäten in Uterus, Nebennieren, Lymphknoten, Prostata und Thyreoidea (1, 2), höchste Werte in den Eileitern (15), geringe oder gar keine Werte in Leber, Milz, Hoden, Gehirn festgestellt werden.

Gewebsaktivator befindet sich auch in der Wand kleiner Gefäße, besonders kleiner Venen und Kapillaren. Venöses Endothel ist reich an Plasminogenaktivator, während die arterielle Intima des Menschen keine fibrinolytische Aktivität besitzt (25).

Urokinase kommt frei im Harn vor. Im Hinblick auf den hohen Aktivatorgehalt im exkretorischen System könnte angenommen werden, daß Urokinase aus abgestoßenen Zellen freigesetzt wird (16, 58), was noch unbewiesen ist. Bisher konnte kein Übertritt von Urokinase im Blut festgestellt werden (16).

- ad 2. Auch unter normalen Bedingungen scheint im Blut eine kleine Menge eines labilen Aktivators, eines Euglobulins, vorhanden zu sein (29). Er wird über die Leber aus dem Blut entfernt (97).

Bei Übergewichtigen (ebenso wie nach fettreicher Mahlzeit) scheint die Aktivität geringer zu sein als bei Mageren. Der Aktivator ist vermehrt nach Anstrengungen, im Schock und bei plötzlichen Todesfällen. Er wird sehr

leicht an Fibrin adsorbiert. Wahrscheinlich stammt er aus Endothelien (34).

In großer Menge zirkuliert im Blut ein stabiler Proaktivator, der nach Deutsch (29) fest auf der Oberfläche der Thrombozyten adsorbiert ist. Durch Lysokinasen (11) bzw. Kinasen (71, 72, 73) wird er fermentativ aktiviert.

Die Aktivierung des Proaktivators kann spontan (44, 103) oder durch Einwirken von Blut- und Gewebslysokinasen, bakteriell durch Streptokinase und Staphylokinase erfolgen.

Neben körpereigenen Lysokinasen ist also beim Menschen auch die bakterielle Streptokinase imstande, Proaktivator in Aktivator umzuwandeln (60,61,72).

Untersuchungen in der letzten Zeit lassen vermuten, daß die Plasminogen- und Proaktivatoreigenschaften an verschiedenen Sequenzen ein und desselben Moleküls (Proaktivator - Plasminogen - Molekül) lokalisiert sind (55,56, 75, 94, 102). Plasminogen-Streptokinase-Komplexe mit Aktivatoreigenschaften konnten mittels Ultrazentrifuge (18) und Fibrinagarelektrophorese (45) dargestellt werden. Rimmon et al. (84) konnten das Proaktivator-Plasminogen-Molekül chemisch derart verändern, daß es nur mehr Proaktivatoreigenschaften zeigte.

Leukozyten und vielleicht auch Erythrozyten scheinen Kinasen zu besitzen, die die im Blut vorhandene Profibrinolysekinase in plasmatische Fibrinolysokinase überführen (103).

Die intensivste Freisetzung von Kinasen aus Leukozyten wird durch Pyrogene (auch durch Allergene und Antigene) erreicht, wobei sich offenbar das Pyrogen an den Leukozyten festsetzt und dadurch die Kinasen aus der Zellstruktur löst (32).

b. Plasminogenaktivierung

Plasminogen ist ein Euglobulin mit dem Molekulargewicht 141 000 (103) elektrophoretisch wandert es mit den β -Globulinen (92).

Es wird im Gegensatz zu zahlreichen Gerinnungsfaktoren nicht in der Leber, sondern vielleicht in den eosinophilen Leukozyten gebildet. Sicher ist, daß die Eosinophilen Plasminogen synthetisieren und abtransportieren können (52). Der Plasminogengehalt im Plasma ist gleich dem im Serum (45).

1 ml Plasma enthält (nach quantitativen immunologischen Bestimmungen) 150 - 200 μ g Plasminogen (92).

Plasminogen wird durch plasmatische oder zelluläre Aktivatoren in Plasmin umgewandelt. Dabei ist zu bemerken, daß das entstehende Plasmin autokatalytisch auf Plasminogen einwirkt (34). Nach neueren Erkenntnissen soll diese Umwandlung durch Spaltung einer S-S-Bindung bewirkt werden (85)

Andere Autoren postulieren eine Abspaltung von Teilen des Plasminogenmoleküls (83).

Heimbürger (46), Schwick u. Heimbürger (92) kommen auf Grund von Ergebnissen mit der Fibrinagarelektrophorese zu der Ansicht, daß ein Proaktivator-Plasminogen-Komplex existieren mußte und bezweifeln, ob es sich beim Proaktivator wirklich um ein eigenes Molekül handelt.

Die qualitative und quantitative Bestimmung des Plasminogens erfolgt in der Regel durch Aktivierung mit Streptokinase und anschließender Messung des Plasmins mit verschiedenen Methoden (9, 59).

c. Fibrinsspaltung durch Plasmin

Unter lytischer Spontanaktivität versteht man die Konzentration an freiem Plasmin, die in Gegenwart der Inhibitoren zur Wirkung kommt (46).

Freies Plasmin kommt auch bei einer erhöhten Fibrinolyse nur in Spuren im Blut vor, meist liegt es als Plasmin-Antiplasmin-Komplex vor (34).

Plasmin hat ein Molekulargewicht von 107 000 bis 125 000.

Das jeweilige Molekulargewicht ist davon abhängig, ob die Aktivierung von Plasminogen autokatalytisch oder durch Streptokinasen oder Urokinase erfolgt (96,99).

Plasmin bewirkt durch Aufspaltung des Fibrins (MG = 330 000) in zahlreiche Polypeptide (ca. MG 100 000) eine weitgehende Zerstörung des Fibrins. Die großen Fibrin-spaltprodukte (Antithrombin IV) wirken als Antipolymerasen, indem sie die Polymerisation von Fibrinmonomeren verhindern (52,91).

Plasmin ist eine nur relativ substratspezifische Hydrolase. Diese Spezifität mag unter anderem darauf beruhen, daß Plasminogen an Fibrin adsorbiert wird, und so bei erfolgreicher Aktivierung unmittelbar auf das Fibrin einwirken kann. Es greift nämlich zwar in erster Linie Fibrin an, bei genügender Aktivität aber auch noch Fibrinogen und die Gerinnungsfaktoren V und VIII sowie andere Proteine (52,98).

Der Abbau des Fibrinogens (MG = 340 000) (20) durch Plasmin führt (ähnlich dem des Fibrins) zuerst zu Gamma-Globulinen (wirksam als Antithrombine), dann weiter zu Beta-Globulinen (nicht mehr als Antithrombine wirksam) (49,93,115).

Normalerweise ist Plasmin in einem Plasmin-Antiplasmin-Komplex gebunden (3), möglicherweise zum Schutz des Fibrinogens vor Fibrinogenolyse (10,34,87,91).

Fibrinolytische und fibrinogenolytische Produkte stimulieren die Abgabe von gespeichertem Fibrinogen aus den Leberzellen und die Produktion von Fibrinogen in den Leberzellen (17).

d. Inhibitoren der Fibrinolyse

Bei den Inhibitoren der Fibrinolyse kann man zwischen den Antiplasminen oder Antifibrinolyse-sinen, die Plasmin und Plasminogen hemmen, und den Antiaktivatoren oder Antifibrinolyse-sokinasen un-

terscheiden (13, 57, 98).

Die Antiplasmin im Blut unterteilen Schwick und Heimbürger nach ihrer Reaktionsgeschwindigkeit in einen Progressivinhibitor und in Antiplasmin vom Soforttyp. Der Progressivinhibitor, ein Alpha-1-Antitrypsin (Globulin), hemmt Plasmin irreversibel (92).

Sofortantiplasmin sind ein Alpha-2-Makroglobulin und ein Antithrombin III (ebenfalls ein Alpha-2-Globulin). Das Alpha-2-Makroglobulin bildet mit Plasmin einen leicht dissoziablen Komplex (3, 4). Bei Berührung mit Fibrin lagert sich Plasmin an Fibrin und löst es auf.

Marx (66) unterteilt die Antifibrinolyse - im Gegensatz zu Schwick et al. (92) - nicht nach elektrophoretischen Erkenntnissen sondern gemäß ihrer Herkunft im Organismus folgendermaßen:

im Blut: Fibrin (Antifibrinolyse 1)
Progressivantifibrinolyse
Plasmaantitrypsin (Sofortinhibitor) - Alpha-2-Antitrypsin
Thrombozytenantifibrinolyse (Sofortinhibitor)
Leukozytenantifibrinolyse
Alpha-Heparin
Cholesterin und Beta-Lipoproteide

im Gewebe: Antifibrinolyse in Pankreas,
Parotis, Leber, Milz, Lunge.

Zu den Kinasenhemmstoffen zählt Marx (66) die Inhibitoren der plasmatischen Fibrinolysekinasen im Blut:

Alpha-2-Globulin-Inhibitor
Lysin und Arginin (Abbauprodukte des Fibrins)
Trypsininhibitor
Kallikreininhibitor
Epsilon-Aminocapronsäure

und die Inhibitoren der aktiven zellulären Fibrinolysekinasen im Gewebe:

Epsilon-Aminocapronsäure

Pektine ?

Antiplasmin und der physiologische Antiaktivator werden in der Leber gebildet (52).

Die Inhibitoren der Fibrinolyse sind heute noch nicht endgültig erforscht (34).

C. Bedeutung der Fibrinolyse

Hingewiesen sei auf die umfassenden Darstellungen von Astrup (16) und Fearnley (34). Hier können nur uns besonders wichtig erscheinende Gesichtspunkte ventiliert werden.

Im gesunden Organismus sollen Gerinnung und Fibrinolyse in einem dynamischen Gleichgewicht stehen, ein erhöhtes Gerinnungspotential soll eine verstärkte Fibrinolyse bewirken (24). Die Bildung von Fibrin erfolgt relativ schnell, der Abbau von Fibrin relativ langsam. Die Aufrechterhaltung des hämostatischen Gleichgewichts, die wichtigste Aufgabe der Fibrinolyse, beruht auf der ausgewogenen Bildung und Auflösung von Fibrin (16).

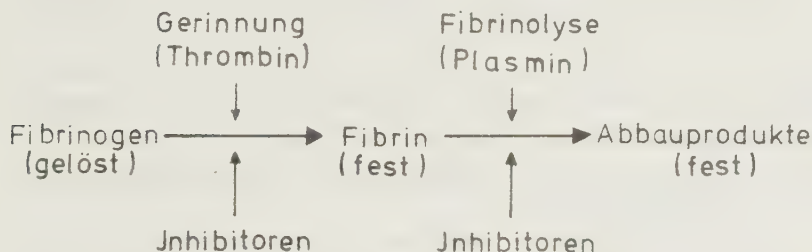


Abb. 2: Das hämostatische Gleichgewicht und seine Regulierung nach Astrup (16)

Dort, wo im Organismus Fibrin gebildet und abgelagert wird, findet die Fibrinolyse statt, nämlich im Kapillarbett und an Orten kleiner Gewebsverletzungen.

Das Vorkommen von diffusen hämorrhagischen Prozessen, besonders der sog. fibrinolytischen Purpura, legte die Vermutung nahe, daß sich in den Kapillaren eine zusammenhängende Fibrinschicht befindet, die an der Regulierung der Kapillarpermeabilität teilnimmt (26). Es muß also zur Erhaltung der Integrität des Gefäßsystems kontinuierlich an der Endothelschicht der Kapillaren Fibrin gebildet und abgebaut werden.

Fibrin dient unter anderem als Substrat, in das Fibroblasten einwandern, um im Wundbereich reparatives Bindegewebe zu bilden. Das fibrinolytische System verhindert die überschüssige Bildung von Bindegewebe. In Organen mit hoher fibrinolyt. Aktivität (Uterus) kommt es kaum zur Narbenbildung (34).

Ferner spielt die Fibrinolyse eine wichtige Rolle in Flüssigkeiten wie Urin, Tränenflüssigkeit und Pankreassekret.

Für die Pathogenese der Arteriosklerose und gewisser Alterungsprozesse zeigt die Fibrinolyse möglicherweise einige Ursachen auf:

- a) Witte (110) fand in der Intima der menschlichen Aorta eine hohe thromboplastische Aktivität, in der Media eine mittlere, in der Adventitia nur eine geringe. Mit der fibrinolytischen Aktivität verhält es sich genau umgekehrt (14). Da die Intima über keine fibrinolytische Aktivität verfügt, findet eine Auflösung des abgelagerten Fibrins nur statt, wenn fibrinolytisch aktive Stoffe im strömenden Blut sind und während der Gerinnung in das Fibrin aufgenommen werden.
- b) Die venöse Intima ist fibrinolytisch aktiv, manchmal sogar hoch aktiv (25, 69).
Bei Ratten konnte mit sklerosierenden Agenzien die fibrinolytisch aktive Endothelschicht vernichtet werden, was eine verzögerte Thrombolyse bewirkte (54), da nur an den Stellen des intakten Endothels eine Lyse beginnt.

4. Fibrinolytische Therapie

=====

A. Fibrinolytika

Direkte Fibrinolytika sind Substanzen, die selbst nicht in das fibrinolytische System eingreifen, aber Aktivatoraktivität im Blut induzieren. Dazu gehören Pyrogene und gefäßerweiternde Stoffe, vor allem Nikotinsäure und deren Derivate (28, 42).

Indirekte Fibrinolytika greifen selbst in das fibrinolytische System ein. Dies können sein Fibrinolysokinasen, Fibrinokinasen, Fibrinolysin, Streptokinase, Urokinase (28).

Streptokinase, das Stoffwechselprodukt Beta-hämolisierender Streptokokken ist das in der Klinik am häufigsten verwendete Thrombolytikum mit einem Molekulargewicht von 47 000 (90).

Der Wirkungsmechanismus der SK ist bis heute noch nicht völlig geklärt. Es existieren verschiedene Hypothesen:

Nach Astrup (10) und Müllertz et al. (72, 74) bildet Streptokinase über den Humanproaktivator den Aktivator. Dieser wandelt Plasminogen in Plasmin um. (Die Aktivatoren des Gewebes, Blutes und der Körperflüssigkeiten wandeln Plasminogen direkt in Plasmin um.)

Das folgende Schema veranschaulicht die Arbeitshypothese von Schwick und Heimbürger (92). Es zeigt die Aktivierung eines Proaktivator-Plasminogenkomplexes durch SK:

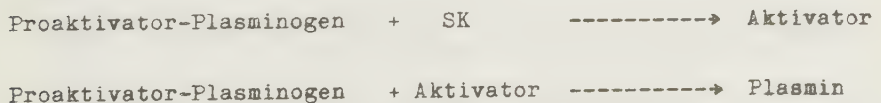


Abb. 3

Plasmin nimmt unter Verlust seiner fibrinolytischen *Wirksamkeit* Streptokinase auf. Der Aktivator wird im Gegensatz zu Plasmin nicht von Alpha-1-Antitrypsin (Progressivantiplasmin) gehemmt (92).

Nach Fischbacher (35, 36) kann man während der Therapie mit Streptokinase 3 fibrinolytische Phasen unterscheiden.

Überwindung der Anti-Streptokinase und der Anti-Lysine,
keine Fibrinolyse im TEG,

Verbrauch an Proaktivaor und Plasminogen,
Reduktion der Gerinnungsfaktoren I, V, VIII,
aktive Fibrinolyse im TEG,

Fehlen von Proaktivator, Plasminogen,
Anwesenheit von Streptokinase,
keine aktive Lyse im Blut des Patienten,
keine aktive Lyse im TEG.

An jede Streptokinase-Therapie zur Auflösung eines Thrombus muß sich eine Antikoagulantien-Therapie anschließen (39, 48, 47, 63).

Weitere, in ihrem fibrinolytischen Wirkungsmechanismus z.T. noch nicht genau geklärte, Pharmaka sind :

Heparin und Heparinoide (46),

Trypsin (34, 46, 103),

Adrenalin (19, 102),

Nicotinsäure (46),

Steroide, Staphylokinase (34),

Sulphonylharnstoffe (5, 46) .

B. Indikationen zur thrombolyt. Therapie (28, 88, 104, 111, 113)

Der Indikationsbereich ist relativ eng begrenzt, da nur eine Soforttherapie gute Erfolge verzeichnen kann. Er erstreckt sich auf:

FrISCHe venöse Thrombosen und Thromboserezidive
bis längstens zum 5.Tag nach ihrer Entstehung,

Pulmonalembolien,

Frische arterielle Thrombosen

(Aussicht auf Dauererfolge **ohne Langzeit-Antikoagulantien-Therapie ist schlecht**)

Arterielle Embolien

(nur, wenn Kontraindikationen gegen ein chirurgisches Vorgehen vorliegen),

Myokardinfarkt

(wenige Stunden alt).

C. Kontraindikationen der thrombolyt. Therapie (28, 36, 76)

Eine thrombolyt. Therapie ist nicht angezeigt bei:

Hämorrhagischen Diathesen,

Ulcera im Magen-Darm-Trakt,

Frischoperierter. und kurz nach Entbindungen,

Kurz vorhergegangener SK-Therapie

(1 Woche bis mehrere Monate zurückliegend),

Kreislaufkollaps und Lungenödem,

Fehlen der Kontrolle vor und während der Therapie, fehlender Möglichkeit einer anschließenden Antikoagulantientherapie,

hohem Alter, Hypertonie,

diabetischen Retinopathien,

Ulcus in der Anamnese.

II. EXPERIMENTELLER TEIL

1. Versuchsanordnung

=====

A. Versuchsbedingungen

Unter verschiedenen Versuchsbedingungen wurde die f. A. von Humanplasma nach Aktivierung mit 10 E und 100 E SK mittels SFP nach der Standardpapierfibrinolyse-Eluationsmethode nach N. Goossens gemessen.

Über 7 Monate (Mai - Dez. 70) wurde monatlich der Einfluß auf die Fibrinolyse-Werte beobachtet, der sich bei folgenden Versuchsbedingungen ergab:

a.) Humanplasma (Citratplasma aus Nüchternblut)

- Frischplasma (maximal 2 Std. alt)
- - Einzelplasmen von 3 gesunden männlichen Probanden
(Alter 20 - 26 J.),
ASK-Titer = 10 E bzw. 30 E.
- Gefrierplasma
- - 3 Einzelplasmen und 1 Mischplasma
(von 10 gesunden männlichen Probanden, Alter 20-26 J.), ASK-Titer 10 E bis 30 E, eingefroren bei
- 30° C im 1. Testmonat (Juni).

b.) Standardfibrinpapier (SFP)

- 3 Chargen (Ch 50, 80, 100)
verschiedenen Herstellungsdatums
aufbewahrt bei Zimmertemp. (+ 20° C)
und bei Kühlschranktemp. (+ 4° C)
verschlossen und unverschlossen
über 7 Monate (Ch 50),
über 4 Monate (Ch 80) und 2 Monate (Ch 100).

- Randstreifen, d.h. die in der Packung außen liegenden SFP-Streifen.

c.) Methode

- Entfärben mit Elphor (norm. Zimmertemp. + 20° C)
- Entfärben mit erwärmtem Elphor (+ 37° C)
- Standardisierung
der Elphormenge je Schale,
der Häufigkeit des Elphorwechsels,
der Elphorentfärbezeit bei 5 oder 10 Streifen
je Glasschale.

Mit Hilfe des Vergleiches der sich bei diesen Versuchsbedingungen ergebenden Lysewerte untereinander konnten wir die schon im Allgemeinen Teil (Einleitung) umrissenen Fragen beantworten.

Die Versuche im einzelnen wurden folgendermaßen durchgeführt:

B. Versuchsdurchführung

Es wurden jeweils neue Chargen Fibrinstreifen (Ch 50, 3 Monate später Ch 80, 2 Monate später Ch 100) abgepackt zu 10 Streifen à 4,0 x 7,0 cm in Plastikhüllen von der Firma Macherey & Nagel geliefert.

Von jeder Charge wurden aufbewahrt:

1. 1 Drittel bei Zimmertemperatur unverschlossen (+ 20° C) in den Plastikhüllen (Zo)
2. 1 Drittel bei Zimmertemperatur verschlossen (+ 20° C) in den Plastikhüllen (Zv)
3. 1 Drittel bei Kühlschranktemperatur (+ 4° C) verschlossen in den Plastikhüllen (Kv).

Alle 4 Wochen erfolgt ein Lysetest mit diesen SFP-Streifen. Dabei werden jeweils die Randstreifen eines Päckchens gesondert getestet.

(Von jeder Packung à 10 Streifen wurden bei den Tests die äuße-

ren verworfen wegen Kontamination (O_2 ; Druck etc.), so daß tatsächlich 8 Streifen je Packung für den Lysetest benutzt wurden.)

Der Test wird durchgeführt:

1.) mit Einzelplasma (Citratplasma aus Citratblut 1 : 5)

von 3 gesunden männlichen Probanden (Alter 20-26 Jahre)

a. Frischplasma (vergl. Abb. 4)

Alle 4 Wochen wird jedem der 3 Probanden die benötigte Blutmenge entnommen und am selben Tag der Test durchgeführt.

Vor dem Test erfolgt mit jedem Plasma der SKR.

b. Gefrierplasma (vergl. Abb. 4)

Bei der ersten Blutentnahme zu Beginn der Tests werden von jedem Probanden je 100 ml Citratplasma (zu je 7 ml in sterile Plastikgläser abgefüllt und verschlossen) bei -30°C eingefroren.

Von diesem Gefrierplasma wird

aa. nach 3 Monaten soviel in Wasser von 37°C aufgetaut, wie für den Test der Ch 50 und SKR nötig ist;

bb. in den folgenden Monaten soviel aufgetaut, wie für den Test mit der jeweiligen Charge und SKR nötig ist.

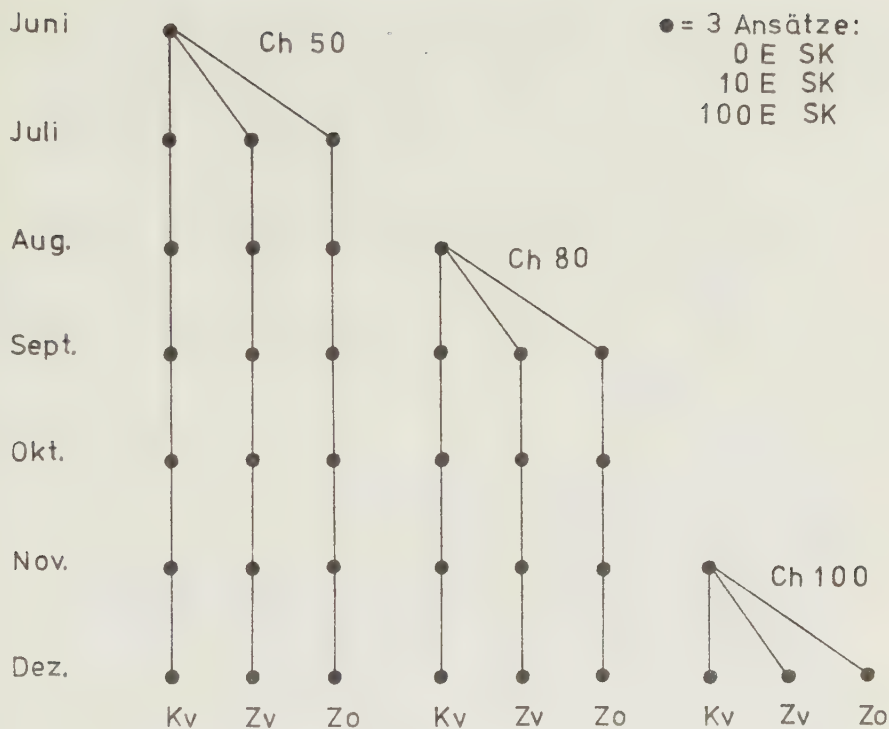


Abb. 4: Zeitliche Folge der Versuchsserie mit einem Frischplasma (gilt auch für Gefrierplasma). Senkrechte Reihen geben die Aufbewahrung der SFP-Streifen an:
 Kv = bei Kühlschrantemp.(+ 4°C) verschlossen
 Zv = bei Zimmertemp.(+ 20°C) verschlossen
 Zo = bei Zimmertemp.(+ 20°C) unverschlossen

2.) mit Mischplasma (Citratplasma aus Citratblut 1 : 5)

von 10 gesunden männlichen Probanden (Alter 20-26 Jahre)
(Vergl. Abb. 4)

- a. Der erste Test (Juni) wird am Entnahmetag ausgeführt (SKR vorher).
- b. Das übrige Citratplasma (400 ml abgefüllt in Plastikgläser zu je 7 ml und verschlossen) wird bei -30°C eingefroren.
Alle 4 Wochen wird die benötigte Plasmamenge in Wasser von $+37^{\circ}\text{C}$ aufgetaut und vor jedem Test SKR durchgeführt.

2. Meßmethoden und Material

A. Standard-Papierfibrinolyse (Eluationsmethode) nach
N. Goossens (43)

a. Materialien und Geräte

1. Natriumcitrat 3,8 %ig, neutral
2. Citratblut 1 : 5
3. Chromatographiepapier MN 260 N zur Leerwertbestimmung
4. Standard-Fibrinpapier MN 260 N
5. Veronal-HCl-Puffer (0.05 mol) pH 7,3
6. Amidoschwarzlösung 10 B (Merck)
7. Elphorentfärber (900 ml Methanol und 100 ml Eisessig)
8. n/10 NaOH
9. Aqua bidest.
10. Test-Streptokinase (Behring), 5 000 U/Amp.
11. Filtrierpapier
12. Photometer "Eppendorf" mit Monochromatfilter (Hg 546 nm)

13. Normalküvetten (Type B, lichte Breite 10 mm) zum Eppendorf-Photometer
14. Brutschrank (37° C)
15. Objektträgerpinzetten
16. Glasschalen "Assistent" Nr. 2911 Größe 1 (12 x 6 x 4 cm) mit Messingdeckel und Dichtung
17. Instrumentenschalen (42 x 7,5 x 5 cm) mit Deckel
18. Reagenzgläser (Länge 9,5 cm, Durchmesser 1,5 cm)
19. Papierschneidemaschine
20. "Jencons" Zippette
21. Plastikröhrchen (für 10 ml) mit Stopfen, sterilisiert.

b. Prinzip

Mit Rinderfibrinogen imprägniertes Chromatographiepapier wird durch Thrombinbehandlung und anschließendes kurzes Erhitzen zu plasminogenfreiem sog. Standard-Fibrinpapier (SFP).^x

Dieses SFP wird in der auf fibrinolytische Aktivität zu prüfenden Testlösung (z.B. Citratplasma) inkubiert. Danach erfolgt Weiterbehandlung etwa analog dem Vorgang bei der Elektrophorese, d.h. nach Färben mit Amidoschwarz und Entfärbung mit Methanol-Eisessig wird der Restfibrin-gehalt des SFP quantitativ photometrisch mit der Elu-ationsmethode bestimmt.

c. Durchführung

1. Testansatz und Inkubation

Citratblut (1 Teil 3,8 %ige Natriumcitrat-Lösung und 4 Teile Blut) wird 5 Min. bei 3 000 rpm zentri-fugiert.

Das Plasma wird abgehebert.

Ansatz:

^x SFP wird von der Firma Macherey & Nagel/Dürer. hergestellt.

Glasschale Nr.	1	2	3
Citratplasma	1 ml	1 ml	1 ml
Veronal-HCl-Puffer	6,5 ml	6,5 ml	6,5 ml
Aqua bidest	1 ml	-	-
Streptokinaselösung 10 E/ml	-	1 ml	-
Streptokinaselösung 100 E/ml	-	-	1 ml

Das Plasma wird mit dem Puffer durch leichtes Schütteln vermischt.

Den SFP-Streifen (7,5 x 4,0 cm) legt man mit der Pinzette auf die Plasmaverdünnung und verschließt die Glasschale mit dem Deckel. Der SFP-Streifen saugt sich voll und taucht unter. Das SFP wird 20 Std. bei 37° C im Brutschrank inkubiert.

2. Wässerung, Färbung, Entfärbung, Trocknung

Nach der Inkubation werden die Streifen 15 min in fließendem Leitungswasser gespült (zur Entfernung von überschüssigem Plasma) und einzeln am Glasrand abgestreift.

Nun werden die Teststreifen MN 260 N/SFP und die Leerwertstreifen MN 260 N (Chromatographiepapier ohne Fibrin) einzeln in die Amidoschwarzlösung getaucht und unter ständigem Schwenken des Farbbehälters 10 min gefärbt. Nach dem Abgiesen der Farbe erfolgt Entfärbung mit Methanol-Eisessig (10:1) in mehreren Stufen, bis der Entfärber klar bleibt; die Extinktion des letzten Elphor Entfärbers beträgt maximal $E = 0.05$ (zum Vergleich: Elphor klar ca. $E = 0.044$).

3. Photometrische Auswertung (Eluation)

Jeder Streifen (Test- u. Leerwert) wird in 5 Folien (à 1 x 3 cm) zerschnitten (Randzonen werden verworfen).

In Reagenzgläser pipettiert man jeweils 5 ml 1/10 n NaOH und gibt jeweils eine Folie dazu.

Unter ständigem Schütteln der Gläser werden die Folien durch die NaOH 30 min lang entfärbt.

Die Extinktion der Farblösung wird nun im "Eppendorf"-Photometer, Monochromatfilter (Hg 546 nm) gemessen.

4. Berechnung der prozentualen Lyse:

$$\text{Formel: Lyse \%} = 100 - \frac{\text{Lyse E} - \text{Papier E}}{\text{Norm E} - \text{Papier E}} \times 100$$

Lyse E = Extinktion des in aktiviertem Testplasma inkubierten SFP

Norm E = Extinktion des in nicht aktiviertem Testplasma inkubierten SFP (0 % Lyse)

Papier E = Extinktion des Chromatographiepapiers ohne Fibrin (Leerwert, 100 % Lyse).

B. Streptokinaseresistenztest (Modifikation der Methode von Fletcher und Deutsch (27))

a. Materialien und Geräte

1. Citratblut 1 : 5
2. Natriumcitrat 3,8 %ig, neutral
3. physiologische Kochsalzlösung 0,9 %ig, sterilisiert
4. Test-Streptokinase (Behring) 5 000 U/Amp.
5. Test-Thrombin (Behring) 60 U/Amp.
6. Reagenzgläser (Länge 9,5 cm; Durchmesser 1,5 cm)
7. Zentrifuge
8. Pipetten
9. Wasserbad 37° C
10. Stoppuhr.

b. Prinzip

Bestimmung des Anti-Streptokinase-Gehalts im Blut.

Wir modifizierten die Methode von Fletcher und Deutsch,

indem wir statt 0,8 ml Blut 1 : 10 nur 0,5 ml Citratplasma (aus Citrat-Blut 1 : 5) in jedes Flockungsröhrchen gaben.

Sinn dieser Abänderung war eine Arbeitsvereinfachung, da für die Standardpapierfibrinolyse Citratplasma aus Blut 1 : 5 benötigt wurde. Es ergab sich bei 0,8 ml Citratblut 1 : 10 und bei 0,5 ml Citratplasma (aus Blut 1 : 5) jeweils der gleiche Anti-Streptokinasetiter je Flockungsröhrchen.

Dies wurde bei 20 Parallel-Versuchen festgestellt.

Zusatz zum SKR:

Amery et al. (6) machten einige interessante Feststellungen bezüglich dieses Tests und eventueller Modifikationen:

1. Es besteht kein Unterschied zwischen Citratblut und Oxalatblut.
2. Bei gespeicherten Blutproben (bei + 18° C) ist mehr SK erforderlich als bei frischen Blutproben.
SKRT sollte deshalb nicht später als 1 Std. nach Blutentnahme gemacht werden.
3. Es fand sich kein Unterschied zwischen
 - a) Vollblut frisch 0,7 ml
 - b) Plasma frisch 0,4 ml
 - c) Plasma gefroren u. aufgetaut 0,4 ml.

c. Durchführung

1. Streptaseverdünnungsreihe

In eine Flasche mit 5 000 I. E. Streptase werden 5 ml physiol. NaCl-Lösung pipettiert.

Röhrchen Nr.	1	2	3	4	5	6	7	8
Streptase-Stammlösung	1		0.5		0.3		0.1	
1000 E/ml NaCl-Lösg ml		0.75		0.4		0.2		0.05
NaCl-Lösung ml	0		0.5		0.7		0.9	
		0.25		0.6		0.8		0.95
Streptase Einheiten/ml	1000		500		300		100	
		750		400		200		50

2. Thrombinlösung

Eine Flasche Test-Thrombin mit 60 NJH wird mit 6 ml Aqua bi-dest verdünnt.

3. Testansatz in 8 Gläsern in der Reihenfolge der Streptaseverdünnungsreihe

Schema:

Glas Nr.	1	usw.
Citratplasma (aus Citratblut 1:5) ml	0,5	usw.
Streptaselösung verschied. Konzent. in obiger Reihenfolge ml	0,1	usw.
Thrombinlösung 10 E/ml [ml]	0,1	usw.

Bei Zugabe der Thrombin-Lösung erfolgt Einschalten der Stoppuhr.

Nach 10 min. Einwirkungszeit ermittelt man das erste Glas der Versuchsreihe, in dem sich das zunächst entstandene Blutgerinnsel wieder vollständig gelöst hat.

Der Streptokinasegehalt des so ermittelten Glases ergibt den Antistreptokinasetiter je 0,5 ml Citratplasma (aus Citrat-

blut 1:5) bzw. je 0.8 ml Citratblut 1:10.

Den Gesamtstreptokinasegehalt des Blutes erhält man, indem der ermittelte ASK-Titer (je 0.8 ml Citratblut 1:10) mit 8000 multipliziert wird.

Wir geben im Folgenden immer den ASK-Titer je 0.8 ml Citratblut 1:10 an.

3. Ergebnisse

Es wird die fibrinolytische Aktivität von Frisch- und Gefrierplasmen, gemessen mit Standardfibrinpapier (SFP) der Charge (Ch) 50, angegeben, und zwar jeweils die Lyse von Plasmen gleichen Antistreptokinase (ASK) - Titters, gemessen mit SFP (aufbewahrt bei Kühlschranktemperatur verschlossen), ferner die Lyse bei SFP verschiedener Aufbewahrung.

Anschließend werden Frisch- und Gefrierplasmen verglichen mittels statistischer Auswertung von Norm E¹ und Papier E der Chargen 50 und 80. (1 siehe Seite 28)

Darauf folgt ein Vergleich der Lyse dreier Chargen verschiedenen Herstellungsdatums (Ch 50, 80, 100) mit Umrechnung der Lyse (%) in Relativprozent (%r)² des Ausgangswertes und Ergebnisse zur Methode mit Angabe der Meßmethodengenauigkeit. (2 siehe Seite 32)

A. Fibrinolytische Aktivität von Frischplasmen nach Aktivierung mit 10 E und 100 E Streptokinase (SK), gemessen mit Ch 50

Der monatliche Testansatz mit den Frischplasmen erfolgte innerhalb 2 Stunden nach der Blutentnahme (Nach Loomis (64) verliert Profibrinolysin-Globulin in vitro bei Zimmertemperatur in 6 bis 8 Stunden seine Aktivität.).

a. Lyse (%) zweier Plasmen A und B (ASK-Titer=10 E), gemessen mit Ch 50, Kv (Tab. 14", Seite 77)

Ch 50 ist im 1. Testmonat 1 Monat alt, im 7. Testmonat 7 Monate alt. Kv bedeutet: Das SFP wurde bei Kühlschranktemperatur in den Plastikhüllen verschlossen aufbewahrt (+ 4°C).

aa. Lyseverlauf über 7 Monate (Tab. 1, 2; Abb. 5, 6)

Die Lyse desselben Plasmas bleibt 3 Monate konstant (bei ca. 83 %) und ist nach 7 Monaten auf die Hälfte des Ausgangswertes (44%) zurückgegangen.

Dies erklärt sich folgendermaßen:

Die Formel zur Bestimmung der Lyse (%) lautet:

$$\text{Lyse (\%)} = 100 - \frac{\text{Lyse E} - \text{Papier E}}{\text{Norm E} - \text{Papier E}} \times 100$$

Papier E (Extinktion des Chromatographiepapiers ohne Fibrin = 100 % Lyse = Leerwert) und Norm E (Extinktion des in nicht aktiviertem Testplasma inkubierten SFP = 0 % Lyse) bleiben relativ konstant, d.h. sie zeigen keine signifikante Änderung. Lyse E (Extinktion des in SK-aktiviertem Testplasma inkubierten SFP) dagegen steigt signifikant ab dem 4.Testmonat, was sich gemäß der Formel in einer Abnahme der Lyse (%) ausdrückt. Bei Ch 50 (Kv), Plasma A und B (ASK-Titer =10 E) liegt:

Norm E bei 0.508 bis 0.538; Papier E bei 0.270 bis 0.288.

Lyse E (Plasma aktiviert mit 10 E SK) bei 0.335 im 1.Testmonat bis 0.438 im 7.Testmonat,

(Plasma aktiviert mit 100 E SK) bei 0.318 im 1.Testmonat bis 0.413 im 7.Testmonat.

Tabelle 1 und 2 veranschaulichen diese Ergebnisse:

Tab.1: Es werden die Mittelwerte (aus je 5 Einzelwerten) der Lyse E (Frischplasma A aktiviert mit 10 E SK) über 7 Monate miteinander verglichen. Erst nach 4 Monaten zeigt sich ein signifikanter Unterschied von $P < 0.001$ (fg=8) zwischen Lyse E von 4 Monate altem und von 1 Monat altem SFP der Ch 50.

Tab.2: Es werden ebenfalls die Mittelwerte der Lyse E der verschiedenen Monate untereinander verglichen, jedoch ist Plasma A (statt mit 10 E) mit 100 E SK aktiviert. Die übrigen Bedingungen sind wie bei Tabelle 1.

Nach 4 Monaten (SFP= 4 Monate alt) zeigt sich ein signifikanter Unterschied von $P < 0.01$ (fg=8) zwischen Lyse E von 4 Monate altem und von 1 Monat altem SFP der Ch 50.

Alter der
Ch 50
(Monate)

Signifikanz

	1	2	3	4	5	6	7
1	$\bar{x}=340$	Ø	Ø	<1‰	<1‰	<1‰	<1‰
2		$\bar{x}=335$	Ø	<1‰	<1‰	<1‰	<1‰
3			$\bar{x}=341$	<1‰	<1‰	<1‰	<1‰
4				$\bar{x}=368$	<1‰	<1‰	<1‰
5					$\bar{x}=392$	<1‰	<1‰
6						$\bar{x}=419$	<5%
7							$\bar{x}=438$

Tab.1

Alter der
Ch 50
(Monate)

	1	2	3	4	5	6	7
1	$\bar{x}=323$	Ø	Ø	<1‰	<1‰	<1‰	<1‰
2		$\bar{x}=318$	Ø	<1‰	<1‰	<1‰	<1‰
3			$\bar{x}=325$	<1‰	<1‰	<1‰	<1‰
4				$\bar{x}=346$	<1‰	<1‰	<1‰
5					$\bar{x}=368$	<1‰	<1‰
6						$\bar{x}=399$	<5%
7							$\bar{x}=413$

Tab.2

Tab.1: Plasma A aktiviert mit 10 E SK (Tab.2: aktiviert mit 100 E SK), gemessen mit Ch 50, Kv. Vergleich der Mittelwerte $\bar{x}$ (aus je 5 Einzelwerten) der Lyse E jeweils zweier Monate mittels t-Test; Angabe der Irrtumswahrscheinlichkeit P in % und ‰ (fg=8).

t = 2.3 (P= 0.05 = 5%); t = 3.35 (P= 0.01 = 1%);
t = 5.0 (P= 0.001 = 1‰); t < 2.3 (P>0.05 = Ø ,d.h. zwischen den beiden $\bar{x}$ -Werten besteht kein signifikanter Unterschied).

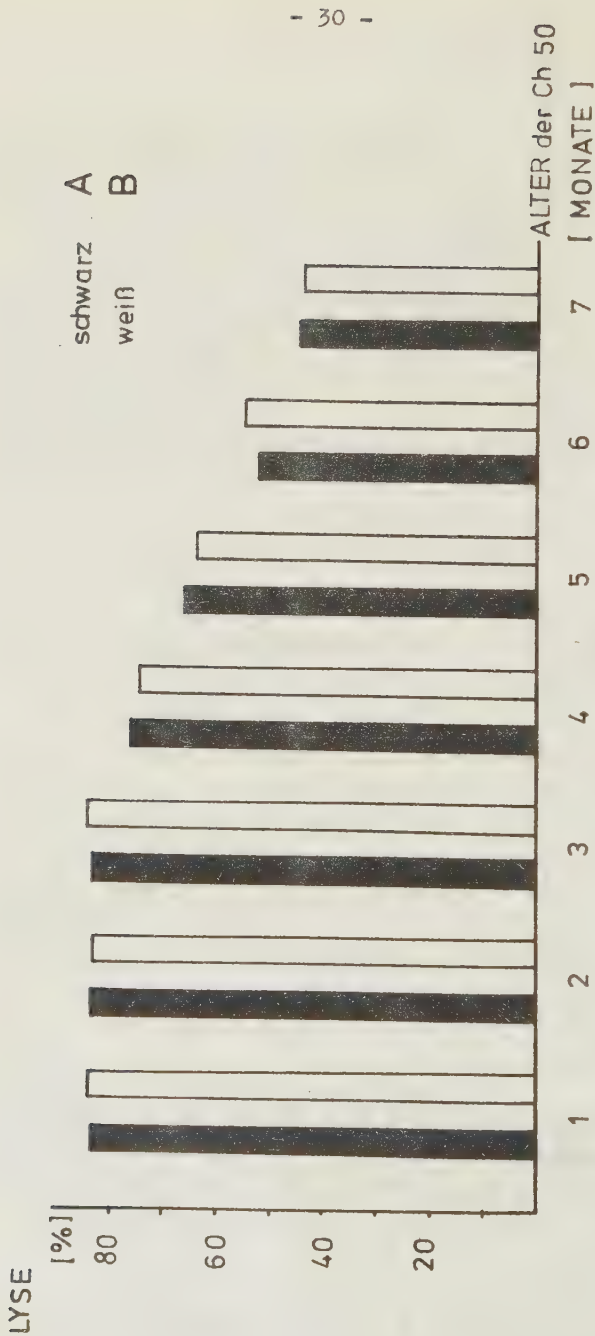


Abb. 5: Alterung des SFP und Vergleich zweier Frischplasmen (A,B) gleichen ASK-Titers.
 Lyse (%) nach Aktivierung mit 100 E SK, gemessen mit Ch 50, Kv.

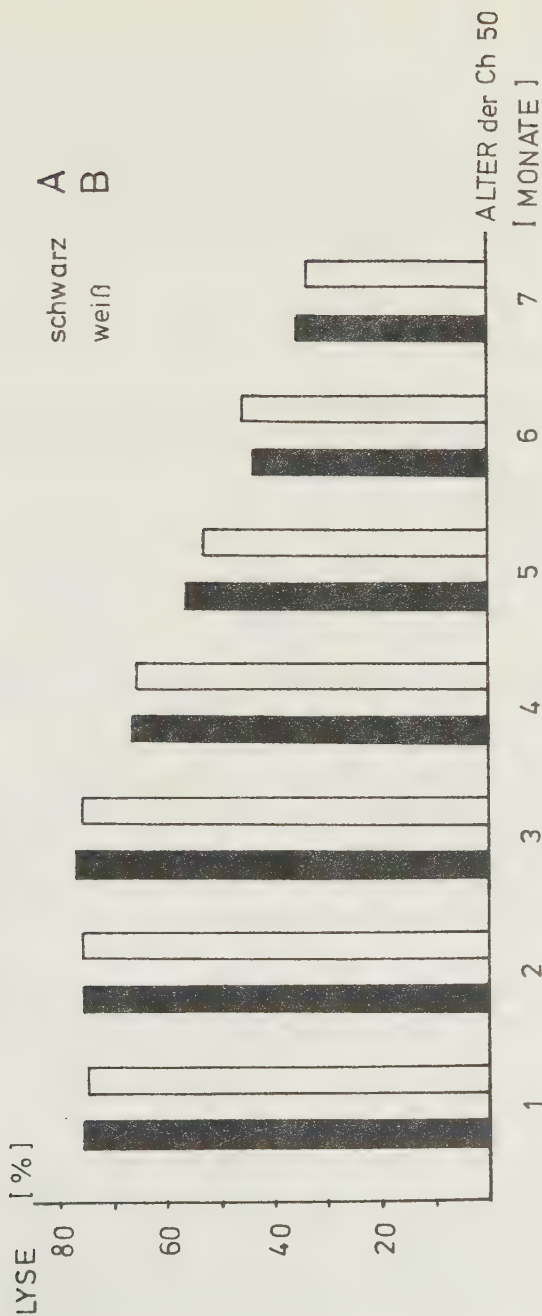


Abb. 6: Alterung des SFP und Vergleich zweier Frischplasmen (A,B) gleichen ASK-Titers.

Lyse (%) nach Aktivierung mit 10 E SK, gemessen mit Ch 50, Kv.

ab. Vergleich der Plasmen A und B (Abb. 5,6)

Zwei Frischplasmen mit gleichem ASK-Titer von 10 E ergeben fast gleiche Lysewerte (%) nach Aktivierung mit 10 E SK und ebenso nach Aktivierung mit 100 E SK.

ac. Vergleich der Lyse (%) nach Aktivierung mit 10 E und 100 E SK

Die Lysedifferenz (%) zwischen Aktivierung eines Plasmas (z.B. Plasma A) mit 10 E und mit 100 E SK bleibt konstant über 7 Monate. Sie beträgt durchschnittlich bei Plasma A und B (ASK-Titer=10 E) je $10 \%r \pm 2$.

Relativprozent (%r) bedeutet: Der Lysewert (%) eines Plasmas nach Aktivierung mit 100 E SK, gemessen mit 1 Monat altem SFP (bei Plasma A = 82.6 %), wird gleich 100 %r gesetzt (bei Plasma A: $82.6 \% = 100 \%r_A$). Sind die sich nach der Lyseformel ergebenden Prozentzahlen auf diese Art umgerechnet, so ist es immer durch %r gekennzeichnet; der tiefgestellte Buchstabe, hier z.B. A, bezeichnet das zur Bestimmung verwendete Plasma.

Zwischen den Mittelwerten $\bar{x}$ (aus je 5 Einzelwerten) der Lyse E des mit 10 E SK aktivierten Plasmas A und des mit 100 E SK aktivierten Plasmas A besteht ein signifikanter Unterschied von $P < 0.01$ (fg = 8). Für Plasmen mit höherem ASK-Titer ergeben sich andere Werte (siehe nächster Absatz).

b. Lyse zweier Plasmen A und C (ASK-Titer = 10 E und 30 E) ver-
schiedenen ASK-Titers, gemessen mit Ch 50, Kv (Tab. 14", Seite 77)

ba. Lyseverlauf des Plasmas C (ASK-Titer = 30 E) über 7 Monate

Analog Plasma A und B bleibt die Lyse des Plasmas C über 4 Monate konstant (bei ca. 76 %), fällt nach 4 Monaten kontinuierlich (um etwa 10 % je Monat) und ist nach 7 Monaten auf etwa die Hälfte des Ausgangswertes (36 %) zurückgegangen. Dies erklärt sich aus einem Anstieg der Lyse E etwa ab dem 4. Testmonat, da Norm E und Papier E relativ konstant bleiben.

Bei Ch 50, Kv, Plasma C (ASK-Titer=30 E) liegt:

Norm E bei 0.488 bis 0.520; Papier E bei 0.270 bis 0.288;

Lyse E (Plasma aktiviert mit 10 E SK) bei 0.358 im 1. Testmonat bis 0.476 im 7. Testmonat,

(Plasma aktiviert mit 100 E SK) bei 0.330 im 1. Testmonat bis 0.433 im 7. Testmonat.

bb. Vergleich der Plasmen A und C (Abb. 7,8)

Beim Vergleich der Lyse (%) über 7 Monate zeigt das Plasma C, aktiviert mit 100 E SK, eine im Durchschnitt um 7 % (oder bezogen auf Plasma A: $82.6 \% = 100 \% r_A$ eine um $8.5 \% r_A$) niedrigere Lyse als Plasma A (Abb.7),

aktiviert mit 10 E SK, eine im Durchschnitt um 15 % (oder bezogen auf Plasma A: $82.6 \% = 100 \% r_A$ eine um $19 \% r_A$) niedrigere Lyse als Plasma A (Abb.8).

bc. Vergleich der Lyse (%) nach Aktivierung mit 10 E und 100 E SK bei Plasma A und C (Abb. 9)

Die Differenz der Lyse (%) zwischen Aktivierung eines Plasmas mit 10 E und 100 E SK bleibt konstant - bei Plasma A und C. Sie beträgt bei Plasma A ca. 7-9 %, bei Plasma C ca. 13-17 % (Abb.9). Diese unterschiedliche Steigerung der Lyse der Plasmen A und C bei Aktivierung mit 10 E und 100 E SK beruht:

1. auf einer etwas niedrigeren Norm E des Plasmas C (0.488 bis 0.520) gegenüber Plasma A (0.508 bis 0.538),
2. auf einer etwas höheren Lyse E des Plasmas C (0.330 bis 0.433) gegenüber Plasma A (0.318 bis 0.413) bei Aktivierung mit 100 E SK; dieser Unterschied der Mittelwerte (aus je 5 Einzelwerten) der Lyse E der Plasmen A und C je Monat ist signifikant mit $P < 0.05$ (fg=8),
3. auf einer bedeutend höheren Lyse E des Plasmas C (0.358 bis 0.476) gegenüber Plasma A (0.335 bis 0.438) bei Aktivierung mit 10 E SK; dieser Unterschied der Mittelwerte zwischen Plasma A und C je Monat ist signifikant mit $P < 0.001$.

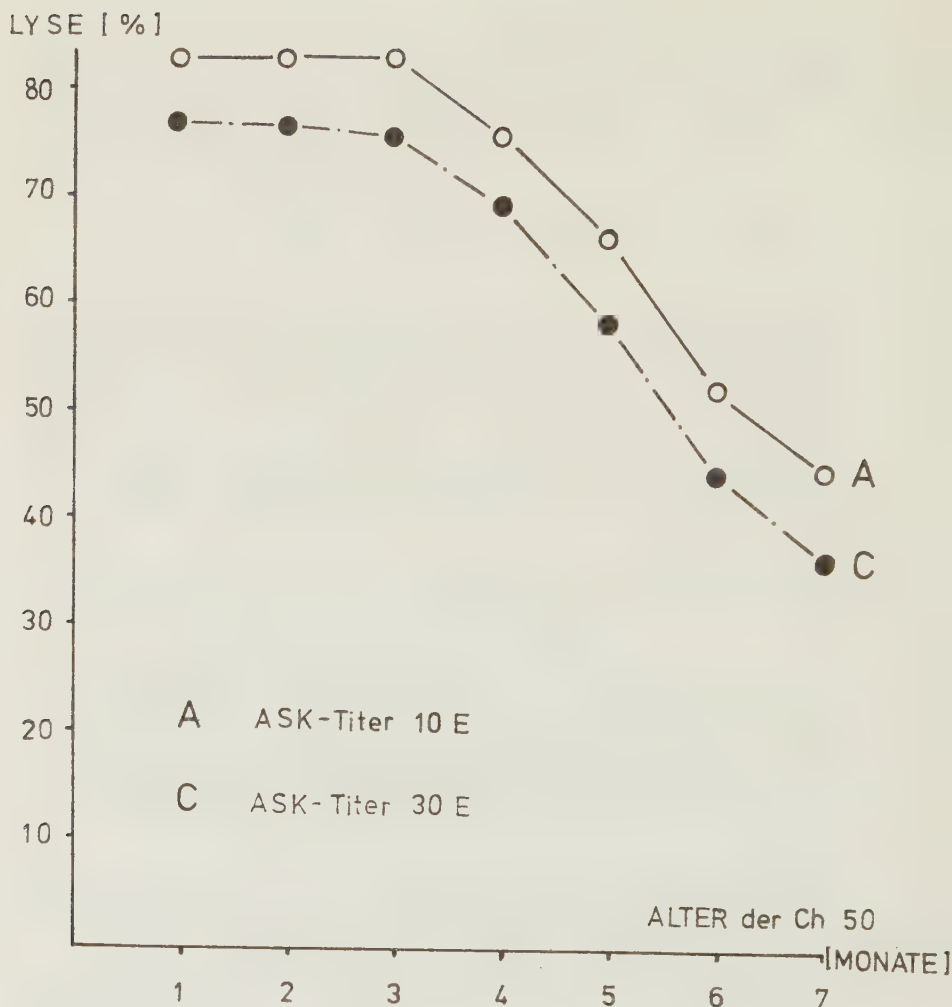


Abb. 7: Vergleich zweier Frischplasmen (A,C) verschiedenen ASK-Titers.

Lyse (%) nach Aktivierung mit 100 E SK, gemessen mit Ch 50, Kv.

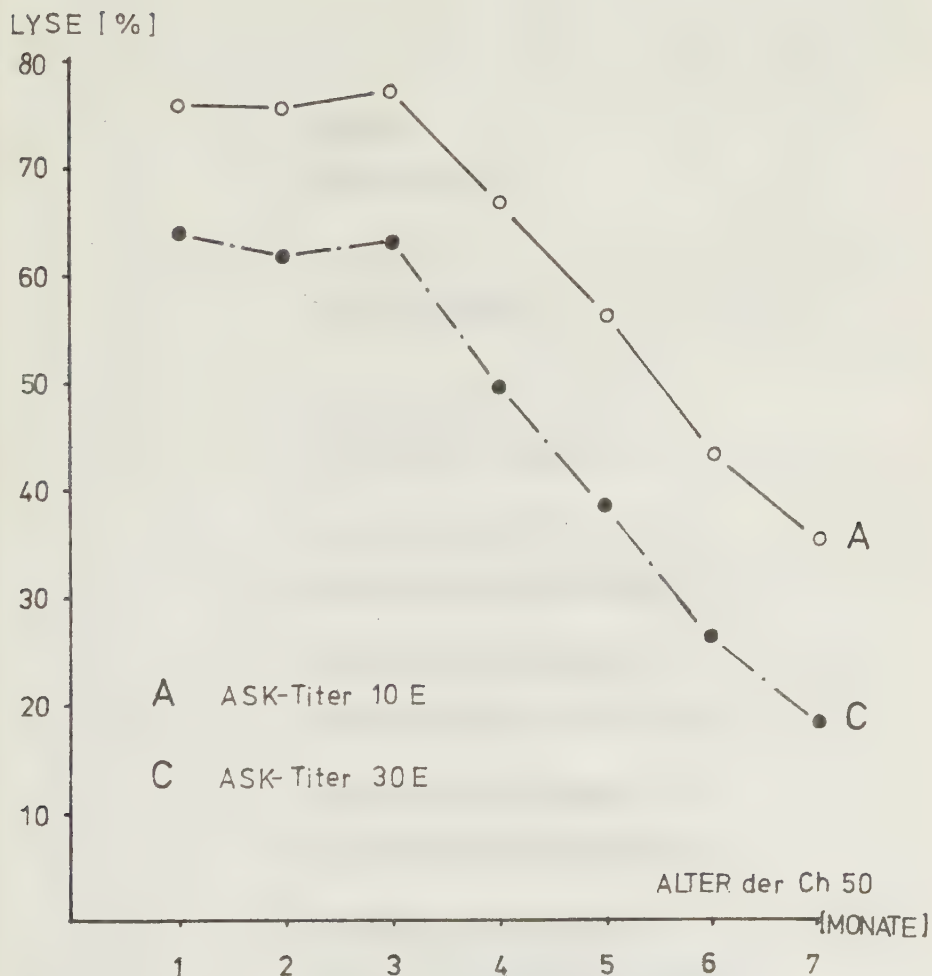


Abb. 8: Vergleich zweier Frischplasmen (A,C) verschiedenen ASK-Titers.

Lyse (%) nach Aktivierung mit 10 E SK, gemessen mit Ch 50, Kv.

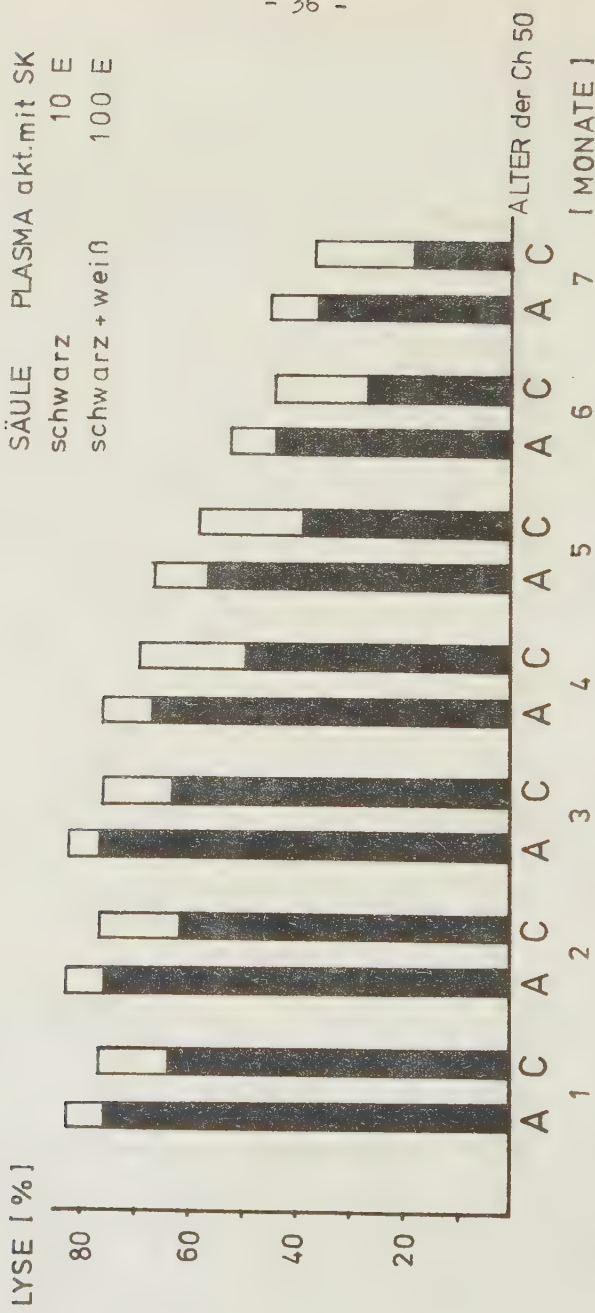


Abb. 9: Vergleich der Lysedifferenz zwischen Aktivierung mit 100 E und 10 E SK (weißer Säulenabschnitt) zweier Frischplasmen (A,C) verschiedenen ASK-Titers (A:10 E; C:30 E). über 7 Monate.
Lyse (%) nach Aktivierung mit 10 E und 100 E SK, gemessen mit Ch 50, Kv.

Bei Plasma C ist die Steigerung der Lyse E nach Aktivierung mit 10 E SK auf 100 E SK (Vergleich der Mittelwerte (aus je 5 Einzelwerten) der Lyse E nach 10 E und nach 100 E SK-Aktivierung mittels t-Test jeden Monat) signifikant mit $P < 0.001$ (fg=8); bei Plasma A ist dieser Unterschied nur signifikant mit $P < 0.01$ (fg=8).

c. Lyseverlauf (%) des Plasmas A über 7 Monate, gemessen mit Ch 50, deren SFP bei Kv, Zv, Zo, Ko aufbewahrt wurde
(Abb.10; Tab.3,14",20,Seite 81)

Lyseverlauf des mit 10 E und 100 E SK aktivierten Plasmas A über 7 Monate - Vergleich der Lyse % bei Aufbewahrung des SFP der Ch 50 unter folgenden Bedingungen:

ca. SFP aufbewahrt bei Kühlschranktemperatur ($+ 4^{\circ}\text{C}$) in den Plastikhüllen verschlossen (Kv)

SFP (Kv) liefert über den größten Zeitraum gleiche Lyse %: Norm E bleibt relativ konstant, Papier E ebenfalls.

Lyse E steigt nach etwa 4 Monaten kontinuierlich bis zum Ende des 7.Testmonats (Ch 50 = 7 Monate alt). Die Lyse in % ist nach 7 Monaten auf die Hälfte des Ausgangswertes gefallen.

cb. SFP aufbewahrt bei Zimmertemperatur ($+ 20^{\circ}\text{C}$) in den Plastikhüllen verschlossen (Zv)

Plasma A zeigt 1.5 Monate nach Aufbewahrung der Ch 50 bei Zv (Chargenalter = 2 Monate) bei Aktivierung mit 100 E SK eine um ca.14 % niedrigere Lyse als bei Kv, bei Aktivierung mit 10 E SK eine um ca.15 % niedrigere Lyse als bei Kv.

Der Abstand (in Lyse %) zwischen Zv und Kv bewegt sich bei gleichen Bedingungen (gleiches Plasma, gleiche Aktivierung usw.) etwa zwischen 15 % und 20 % in den restlichen Beobachtungsmonaten. - Für Plasma C (ASK-Titer =30 E) gilt dasselbe.

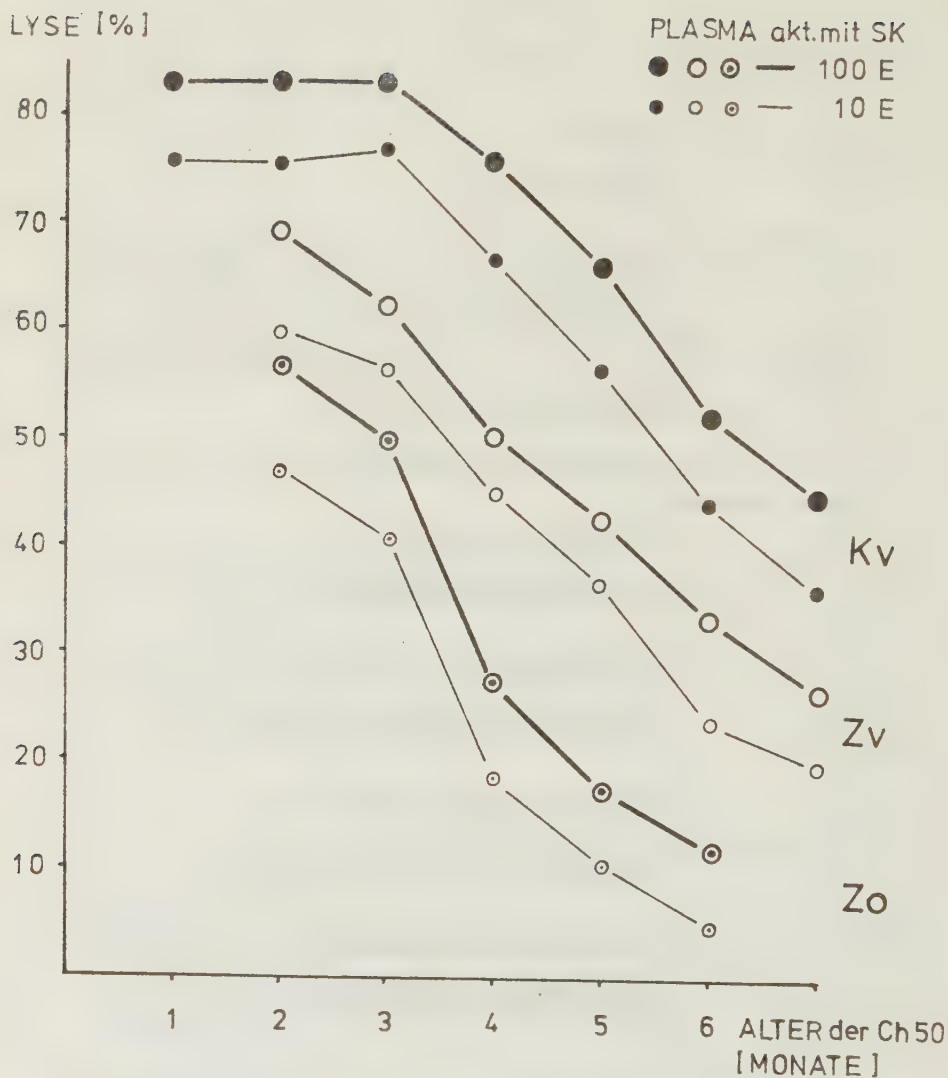


Abb.10: SFP bei verschiedenen Lagerungsbedingungen.

Lyse (%) des Frischplasmas A nach Aktivierung mit 10 E und 100 E SK, gemessen mit Ch 50, deren SFP bei +20°C offen (Zo), bei +20°C verschlossen (Zv) und bei +4°C verschlossen (Kv) aufbewahrt wurde.

Dieser Unterschied der Lyse (%) zwischen Zv und Kv ist rechnerisch zurückzuführen auf eine (schon nach 1.5 Monaten Zv-Aufbewahrung auftretende) etwas niedrigere Norm E (0.491) gegenüber Kv (0.508), die während der restlichen Beobachtungsmonate bleibt , und eine bei Zv höhere Lyse E, die kontinuierlich ansteigt. Sie ist mit $P < 0.001$ (fg=8) gegenüber Kv signifikant höher (Tab.3).

cc. SFP aufbewahrt bei Zimmertemperatur (+ 20°C) in den Plastikhüllen unverschlossen (Zo)

Plasma A zeigt 1.5 Monate nach Aufbewahrung der Ch 50 bei Zo (Chargenalter = 2 Monate):

im Vergleich zu Kv

bei Aktivierung mit 100 E SK eine ca. 25 % niedrigere Lyse als Kv, bei Aktivierung mit 10 E SK eine ca. 30 % niedrigere Lyse als Kv. Die Lyseminderung bei Zo gegenüber Kv (selber Monat) beträgt bei einem Chargenalter von 6 Monaten 40 Lyse %.

im Vergleich zu Zv

bei Aktivierung mit 100 E SK eine ca. 12 % niedrigere Lyse als Zv, bei Aktivierung mit 10 E SK eine ca. 12 % niedrigere Lyse als Zv. Die Lyseminderung bei Zo gegenüber Zv (selber Monat) beträgt bei einem Chargenalter von 6 Monaten 25 %.

cd. SFP aufbewahrt bei Kühlschranktemperatur (+ 4°C) in den Plastikhüllen unverschlossen (Ko)

Plasma A zeigt 1.5 Monate nach Aufbewahrung der Ch 50 bei Ko (Chargenalter = 2 Monate) keine meßbare Lyse mehr, da sich die SFP -Streifen unterschiedlich (fleckig) anfärben in der Amidoschwarzlösung (Ursache : vermutlich ungleichmäßige Benetzung der SFP-Oberfläche mit Testplasma infolge Feuchtigkeit der SFP-Streifen.)

Alter der Ch 50 (Monate)	Lyse E						
	Zv	Kv	Zo	Kv	Zo	Zv	
2 (1.5) ⁺	364	335	392	335	392	364	$\bar{x}$
	315	215	382	215	382	315	Sx
	0.001		0.001		0.001		P<
3 (2.5)	386	341	405	341	405	386	$\bar{x}$
	258	263	356	263	356	258	Sx
	0.001		0.001		0.01		P<
4. (3.5)	417	368	451	368	451	417	$\bar{x}$
	418	248	432	248	432	418	Sx
	0.001		0.001		0.001		P<
5 (4.5)	432	392	474	392	474	432	$\bar{x}$
	377	350	391	350	391	377	Sx
	0.001		0.001		0.001		P<
6 (5.5)	458	419	482	419	482	458	$\bar{x}$
	400	291	586	291	586	400	Sx
	0.001		0.001		0.01		P<
7 (6.5)	461	438					$\bar{x}$
	471	360					Sx
	0.01						P<

Tab.3: Vergleich der SFP-Alterung bei verschiedener Lagerung. Frischplasma A aktiviert mit 10 E SK. Vergleich der Mittelwerte $\bar{x}$ der Lyse E (aus je 5 Einzelwerten) von SFP der Ch 50 (Zv-Kv, Zo-Kv, Zo-Zv) jeden Monat mittels t-Test.)⁺ Lagerungsdauer des SFP bei Zo und Zv (Monate).

B. Fibrinolytische Aktivität von Gefrierplasmen nach Aktivierung mit 10 E und 100 E SK, gemessen mit Ch 50

Am ersten Testtag (Ch 50 = 1 Monat alt) wurde Blut von 3 gesunden männlichen Probanden (3 Einzelplasmen) und von 10 gesunden männlichen Probanden (1 Mischplasma) entnommen und sofort der Ansatz gemacht. Der Rest dieser 4 Plasmen wurde bei -30°C eingefroren und jeden Monat die benötigte Menge der Gefrierplasmen aufgetaut.

a. Lyse zweier Plasmen a und b (ASK-Titer=10 E), gemessen mit Ch 50, Kv (Tab.17, Seite 78)

aa. Lyseverlauf über 7 Monate (Abb. 11)

Die Lyse der Plasmen a und b sinkt kontinuierlich (Plasma altert, SFP altert). 6 Monate nach der Blutentnahme und dem anschließenden Einfrieren der Plasmen, zeigt sich bei Aktivierung mit 100 E SK eine um ca. 50 % (= 60 % r_A bezogen auf Plasma A: 82.6 % = 100 % r_A) niedrigere Lyse als im 1. Testmonat (82.6 %), bei Aktivierung mit 10 E SK eine um 44 % (54 % r_A) niedrigere Lyse als im 1. Testmonat.

ab. Vergleich der Plasmen a und b (Abb. 11)

Die Gefrierplasmen zweier Personen mit gleichem ASK-Titer (je 10 E) zeigen bei Aktivierung mit 10 E bzw. mit 100 E SK gleiche Lysewerte (%).

ac. Vergleich der Lyse % nach Aktivierung mit 10 E und 100 E SK (Abb. 12; Tab. 4)

Die Lysedifferenz (%) des Plasmas a nach Aktivierung mit 10 E und 100 E SK verringert sich gegen Ende der 7 Monate langen Beobachtungszeit.

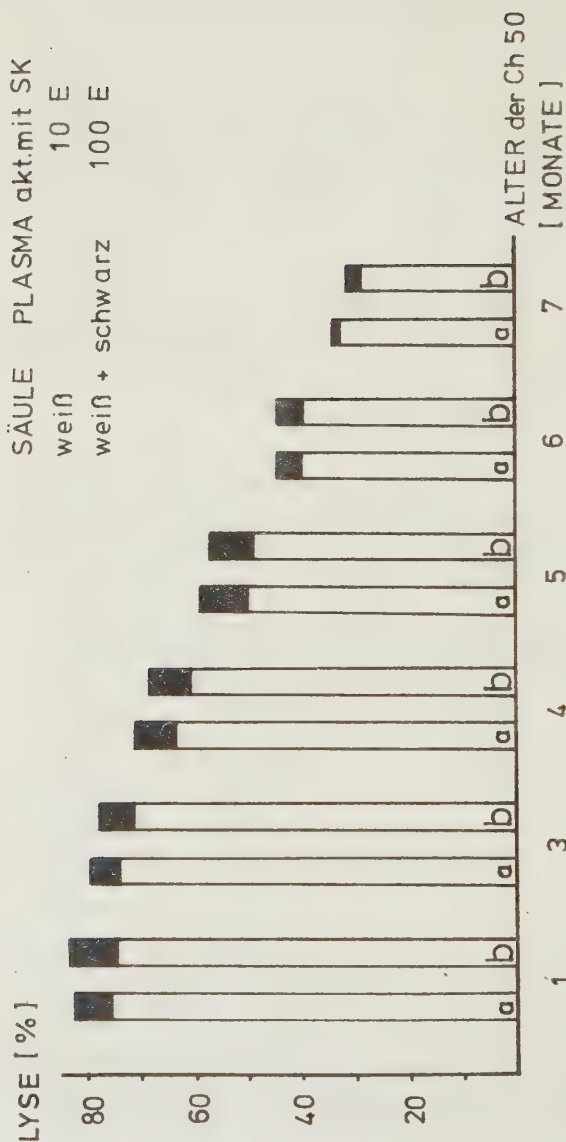


Abb. 11: Alterung des SFP und Vergleich zweier Gefrierplasmen (a,b) gleichen ASK-Titers (=10 E).
Lyse (%) nach Aktivierung mit 10 E und 100 E SK, gemessen mit Ch 50, Kv.

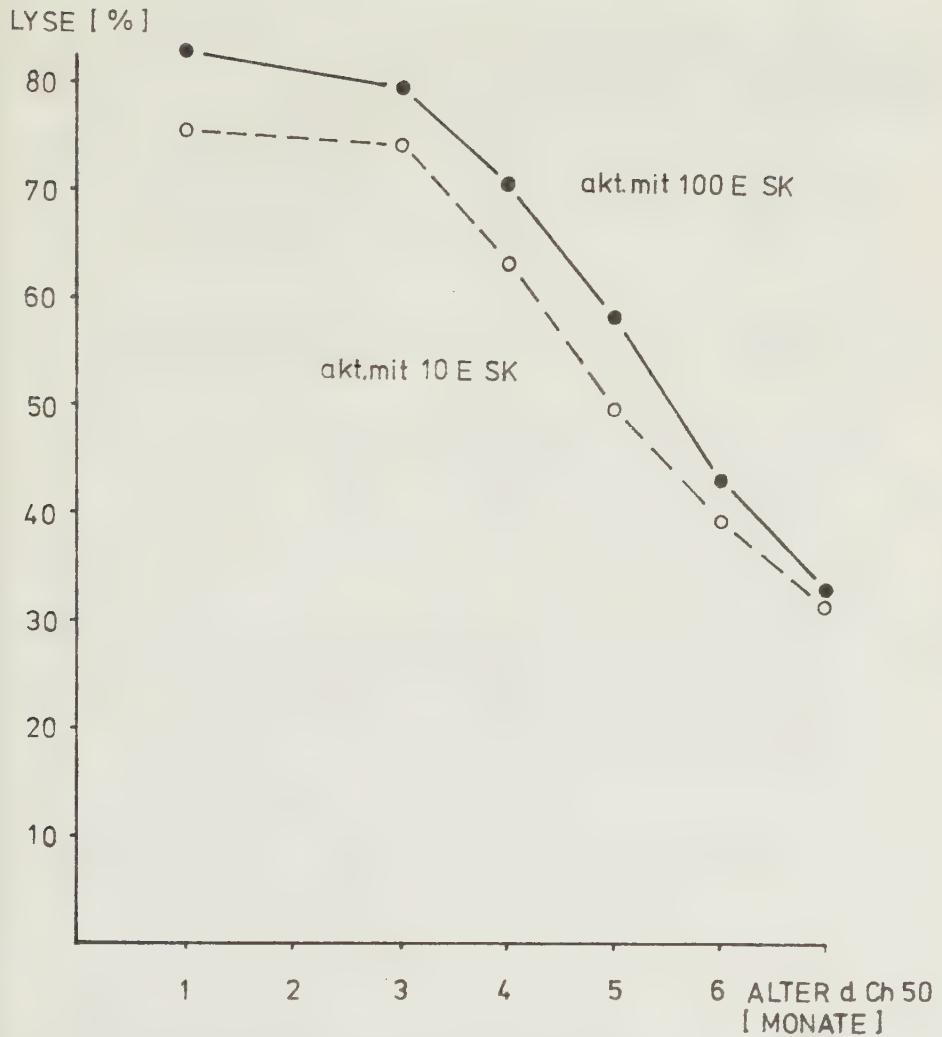


Abb. 12: Verringerung der Lysedifferenz zwischen Aktivierung mit 100 E und 10 E SK mit zunehmendem Gefrierplasmenalter. Lyse (%) nach Aktivierung mit 10 E und 100 E SK, gemessen mit Ch 50, Kv.

Alter der Ch 50 (Monate)	Plasma a		Plasma b		fg=8
	10 E	100 E	10 E	100 E	
3	340	328	350	334	$\bar{x}$
	173	200	153	261	Sx
	0.05		0.01		P<
4	371	354	374	358	$\bar{x}$
	392	270	274	206	Sx
	0.05		0.05		P<
5	403	383	406	387	$\bar{x}$
	280	302	362	274	Sx
	0.01		0.01		P<
6	424	415	427	412	$\bar{x}$
	340	316	282	336	Sx
	Ø		0.05		P<
7	431	428	439	433	$\bar{x}$
	286	398	272	228	Sx
	Ø		Ø		P<

Tab. 4: Verringerung der Differenz der Lyse E zwischen Aktivierung mit 100 E und 10 E SK mit zunehmendem Gefrierplasmenalter. Vergleich der Mittelwerte $\bar{x}$ (aus je 5 Einzelwerten) der Lyse E bei Gefrierplasmen (a,b) nach Aktivierung mit 10 E und 100 E SK, gemessen mit Ch 50,Kv.

Ø bedeutet: Es besteht kein signifikanter Unterschied.

Bei Plasma a (und bei b) ist nach 5 Monaten kein signifikanter Unterschied zwischen den Mittelwerten (aus je 5 Einzelwerten) der Lyse E von 10 E und 100 E SK-Aktivierung mittels t-Test mehr festzustellen (gegenüber $P < 0.05$ (fg=8) in den Monaten zuvor), (Tab.4, Abb.12).

Dies beruht in rechnerischer Hinsicht auf einer kontinuierlichen Verringerung der Norm E und Steigerung der Lyse E bei 10 E und bei 100 E SK-Aktivierung.

b. Lyse zweier Plasmen a und c (ASK-Titer = 10 E und 30 E),
gemessen mit Ch 50 Kv (Tab.17, Seite 78)

Der ASK-Titer wurde jeden Monat mit dem aufgetauten Gefrierplasma bestimmt; er blieb konstant über die Dauer der Tests.

ba. Lyseverlauf (%) des Plasmas c (ASK-Titer=30 E) über 7 Monate

Analog Plasma a und b fällt die Lyse (%) des Plasmas c kontinuierlich und ist im 7.Testmonat (SFP der Ch 50 ist 7 Monate, Plasma ist 6 Monate alt) bei Aktivierung mit 100 E SK — gegenüber 76.6 % (= $100 \% r_C$) im 1.Testmonat — um 52 % (= $68 \% r_C$) auf 23.5 % (= $32 \% r_C$) gefallen, bei Aktivierung mit 10 E SK — gegenüber 63.3 % (= $82.6 \% r_C$) im 1.Testmonat — um 47.9 % (= $62 \% r_C$) auf 15 % (= $20 \% r_C$) gefallen.

bb. Vergleich der Plasmen a und c (Abb. 13)

Plasma c zeigt:

aktiviert mit 100 E SK im 3.Testmonat eine um ca. 10 % (oder bezogen auf Plasma A: $82.6 \% = 100 \% r_A$ eine um $12 \% r_A$) niedrigere Lyse als Plasma a im selben Monat, im 6.Testmonat eine um ca. 7.5 % (= $9 \% r_A$) niedrigere Lyse als Plasma a im selben Monat;

aktiviert mit 10 E SK im 3. Testmonat eine um ca. 17 % (= 20 % r_A) niedrigere Lyse als Plasma a im selben Monat (Abb. 13), im 6. Testmonat eine um ca. 12 % (= 14.5 % r_A) niedrigere Lyse als Plasma a im selben Monat.

bc. Vergleich der Lyse % nach Aktivierung mit 10 E und 100 E SK bei Plasma a und c (Abb. 13; Tab. 4,5,6)

Die Differenz der Lyse % zwischen Aktivierung mit 10 E und 100 E SK nimmt ab - bei Plasma a, b, c, m (m = Mischplasma von 10 Probanden). Sie beträgt bei Plasma a (ASK-Titer = 10 E) im 1. Testmonat (Ch 50 = 1 Monat, Plasma = 0 Monate alt) ca. 8 % (= 9.7 % r_A bezogen auf Plasma A: 82.6 % = 100 % r_A), im 3. Testmonat (Ch 50 = 3 Monate, Plasma = 2 Monate alt) ca. 6 % (= 7.5 % r_A), im 5. Testmonat ca. 8 % (= 9.7 % r_A), im 6. Testmonat ca. 4 % (= 5 % r_A), im 7. Testmonat ca. 2 % (= 2.4 % r_A).

Die Lysedifferenz beträgt bei Plasma c (ASK-Titer = 30 E) im 1. Testmonat (Chargen- und Plasmenalter wie bei Plasma a) ca. 13.5 % (= 17.7 % r_C bezogen auf Plasma C: 76.6 % = 100 % r_C), im 3. Testmonat ca. 12 % (= 16 % r_C), im 5. Testmonat ca. 16 % (= 20 % r_C), im 6. Testmonat ca. 9 % (= 12 % r_C), im 7. Testmonat ca. 8 % (= 10 % r_C).

Diese unterschiedliche Steigerung der Lyse der Plasmen a und c bei Aktivierung mit 10 E und 100 E SK beruht in rechnerischer Hinsicht:

1. auf einer etwas niedrigeren Norm E des Plasmas c (0.517 bis 0.495) gegenüber Plasma a (0.525 bis 0.501);
2. auf einer etwas höheren Lyse E des Plasmas c bei Aktivierung mit 100 E SK (0.330 bis 0.446) gegenüber Plasma a (0.323 im 1. Testmonat bis 0.428 im 7. Testmonat); dieser Unterschied der Mittelwerte (aus je 5 Einzelwerten) der Lyse E bei Anwendung des t-Tests ist im 1. Testmonat signifikant mit $P < 0.01$ (fg=8) und ab dem 5. Testmonat signifikant mit $P < 0.05$ (fg=8);

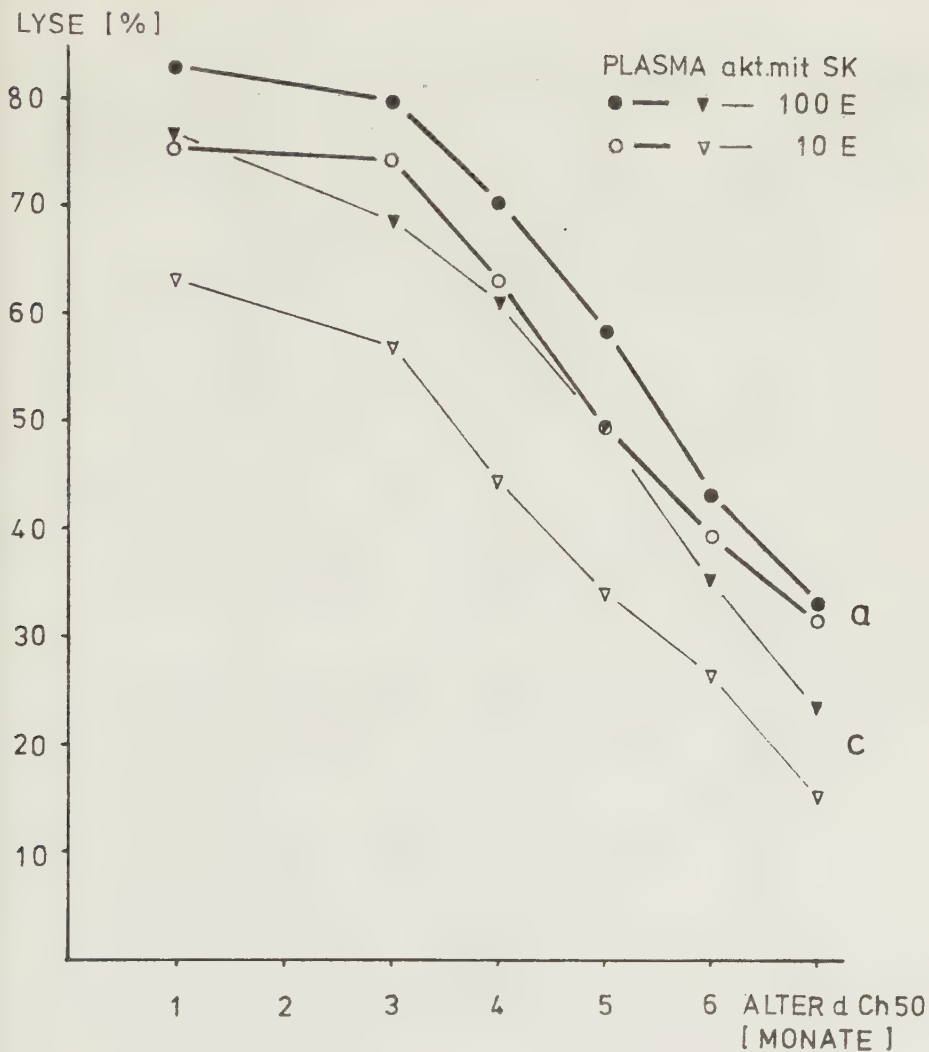


Abb. 13: Vergleich zweier Gefrierplasmen (a,c) verschiedenen ASK-Titers (a:10 E;c:30 E).

Lyse (%) nach Aktivierung mit 10 E SK und 100 E SK, gemessen mit Ch 50,Kv.

Alter der Ch 50 (Monate)	Plasma aktiviert mit SK				fg=8 $N_1=N_2=5$
	10 E		100 E		
	a	c	a	c	
3	340	373	328	348	$\bar{x}$
	173	280	200	187	Sx
	0.001		0.01		P<
4	371	409	354	371	$\bar{x}$
	392	454	270	204	Sx
	0.001		0.01		P<
5	403	431	383	396	$\bar{x}$
	280	295	302	261	Sx
	0.001		0.05		P<
6	424	449	415	430	$\bar{x}$
	340	403	316	313	Sx
	0.01		0.05		P<
7	431	463	428	446	$\bar{x}$
	286	384	398	388	Sx
	0.001		0.05		P<

Tab. 5: Vergleich zweier Gefrierplasmen verschiedenen ASK-Titers.
Vergleich der Mittelwerte (aus je 5 Einzelwerten) der
Lyse E (je Monat) der Gefrierplasmen a und c nach Akti-
vierung mit 10 E und 100 E SK (gemessen mit Ch 50,Kv)
mittels t-Test.

Alter der Ch 50 (Monate)	Plasma c		Plasma m		fg = 8 N ₁ =N ₂ = 5
	10 E	100 E	10 E	100 E	
3	373	348	378	350	$\bar{x}$
	280	187	254	194	Sx
	0.001		0.001		P<
4	409	371	411	380	$\bar{x}$
	454	204	395	318	Sx
	0.001		0.001		P<
5	431	396	427	399	$\bar{x}$
	295	261	284	330	Sx
	0.001		0.01		P<
6	449	430	443	425	$\bar{x}$
	403	313	293	331	Sx
	0.01		0.05		P<
7	463	446	466	445	$\bar{x}$
	384	388	358	326	Sx
	0.05		0.05		P<

Tab. 6: Verringerung der Differenz der Lyse E zwischen Aktivierung mit 10 E und 100 E SK mit zunehmendem Gefrierplasmenalter.

Vergleich der Mittelwerte (aus je 5 Einzelwerten) der Lyse E (je Monat) nach Aktivierung der Gefrierplasmen c und m mit 10 E und 100 E SK (gemessen mit Ch 50, Kv) mittels t-Test.

der Unterschied (in der Lyse E) zwischen Plasma a und c bei Aktivierung mit 100 E SK nimmt also mit steigendem Plasmenalter ab;

3. auf einer bedeutend höheren Lyse E des Plasmas c bei Aktivierung mit 10 E SK (0.353 im 1. Testmonat bis 0.496 im 7. Testmonat) gegenüber Plasma a (0.340 im 1. Testmonat bis 0.431 im 7. Testmonat); dieser Unterschied der Mittelwerte der Lyse E bei Anwendung des t-Tests ist im 1. Monat signifikant mit $P < 0.001$ (fg=8), ab dem 6. Testmonat signifikant mit $P < 0.01$ (fg=8); der Unterschied (in der Lyse E) zwischen Plasma a und c bei Aktivierung mit 10 E SK nimmt also mit steigendem Plasmenalter ab (Tab.5).

Bei Plasma c ist die Steigerung der Lyse nach Aktivierung mit 10 E und 100 E SK (Vergleich der Mittelwerte der Lyse E von 10 und 100 E SK-Aktivierung jeden Monat mittels t-Test) im 6. Testmonat signifikant mit $P < 0.01$ (fg=8), im 7. Testmonat signifikant mit $P < 0.05$ (fg=8), (Tab.6).

Bei Plasma a ist dieser Unterschied der Mittelwerte (aus je 5 Einzelwerten) der Lyse E von 10 E und 100 E SK-Aktivierung mittels t-Test signifikant mit $P < 0.05$ (fg=8), vom 6. Testmonat an ist er nicht mehr signifikant (Tab.4).

c. Lyseverlauf der Plasmen a und c über 7 Monate, gemessen mit Ch 50, deren SFP bei Kv, Zv, Zo aufbewahrt wurde
(Abb. 14,15; Tab. 17,22, Seite 82)

Lyseverlauf der mit 10 E und 100 E SK aktivierten Plasmen a und c über 7 Monate: 0.5 Monate altes SFP der Ch 50, Kv, wurde unter verschiedenen Bedingungen über 7 Monate aufbewahrt und jeden Monat getestet.

ca. SFP aufbewahrt bei Kühlschranktemperatur (+ 4°C) in den Plastikhüllen verschlossen (Kv)

SFP (Kv) liefert über den größten Zeitraum gute Lysewerte (%). Norm E nimmt etwas ab (0.525 im 1. Testmonat - 0.501 im 6. Testmonat). Papier E bleibt konstant.

LYSE [%]

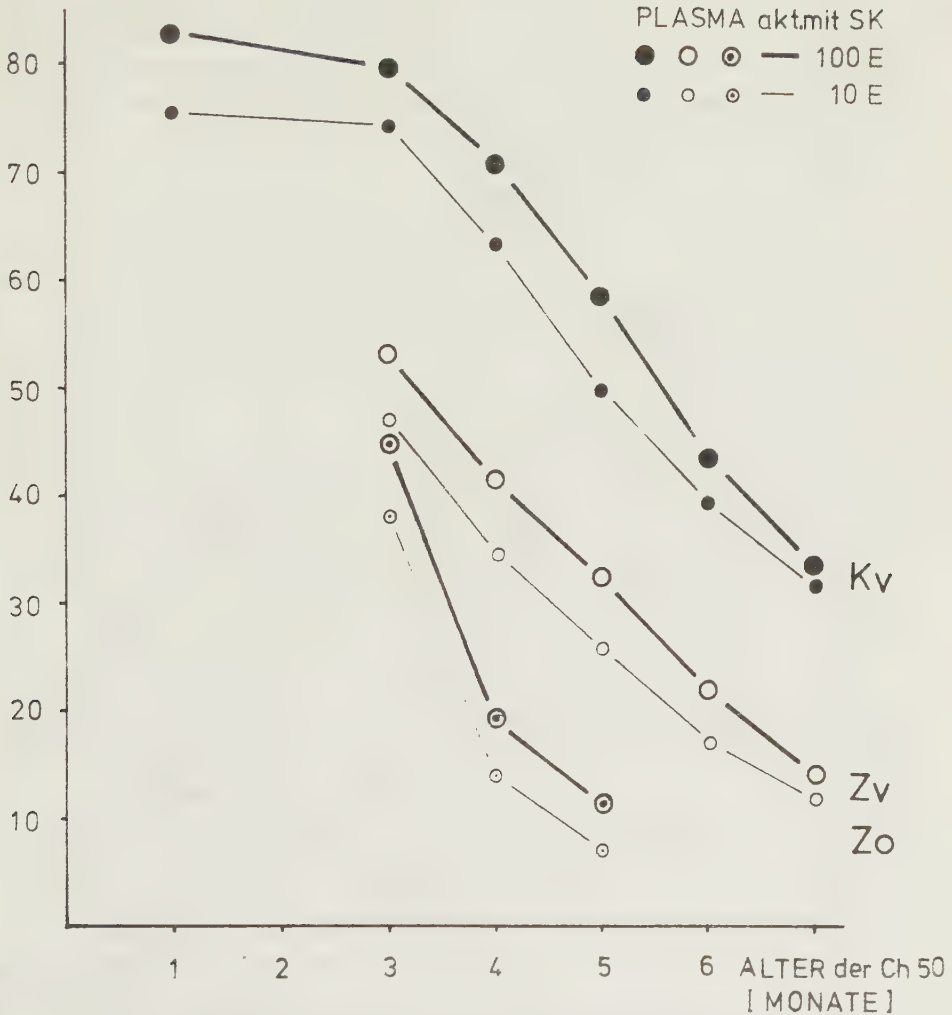


Abb. 14: Alterung des SFP bei verschiedener Lagerung.

Lyse (%) des Gefrierplasmas a nach Aktivierung mit 10 E und 100 E SK, gemessen mit Ch 50, deren SFP bei +20°C offen (Zo), +20°C verschlossen (Zv) und +4°C verschlossen (Kv) aufbewahrt wurde.

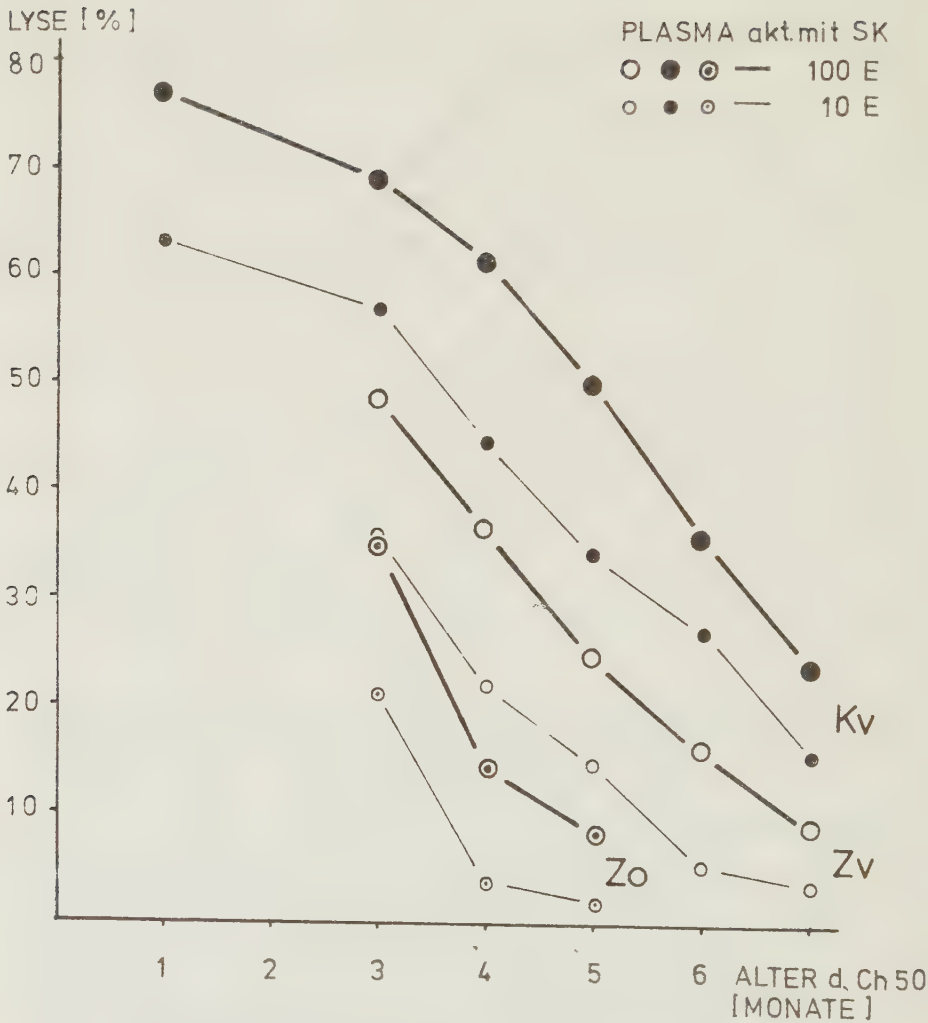


Abb. 15: Alterung des SFP bei verschiedener Lagerung.

Lyse (%) des Gefrierplasmas c nach Aktivierung mit 10 E und 100 E SK, gemessen mit Ch 50, deren SFP bei +20°C offen (Zo), +20°C verschlossen (Zv) und +4°C verschlossen (Kv) aufbewahrt wurde.

Lyse E steigt vom 1. Testmonat an (Plasma = 0 Monate, Ch 50 = 1 Monat alt) beständig bis zum 7. Testmonat (Plasma = 6 Monate, Ch 50 = 7 Monate alt).

Die Lyse (%) ist bei Plasma a (aktiviert mit 100 E SK) von 82.6 % (= 100 %r_A) nach 7 Monaten auf 33 % (= 40 %r_A) gefallen, bei Plasma c (aktiviert mit 100 E SK) von 76.6 % (= 100 %r_C) nach 7 Monaten auf 23.5 % (= 31 %r_C) gefallen.

cb. SFP aufbewahrt bei Zimmertemperatur (+ 20°C) in den Plastikhüllen verschlossen (Zv)

Nach Aktivierung mit 100 E SK im 3. Testmonat (Ch 50 = 3 Monate, Plasma = 2 Monate alt; SFP = 2.5 Monate bei Zv aufbewahrt) zeigt Plasma a eine ca. 27 % (= 33 %r_A bezogen auf Plasma A: 82.6 % = 100 %r_A) niedrigere Lyse als bei Kv - Plasma c eine ca. 23 % (= 30 %r_C bezogen auf Plasma C: 76.6 % = 100 %r_C) niedrigere Lyse als bei Kv -, im 7. Testmonat (Ch 50 = 7 Monate, Plasma = 6 Monate alt; SFP = 6.5 Monate bei Zv aufbewahrt) zeigt Plasma a eine ca. 19 % (= 24.5 %r_A) niedrigere Lyse als bei Kv - Plasma c eine ca. 19 % (= 24.5 %r_C) niedrigere Lyse als bei Kv - .

Nach Aktivierung mit 10 E SK im 3. Testmonat (Ch 50 = 3 Monate, Plasma = 2 Monate alt; SFP = 2.5 Monate bei Zv aufbewahrt) zeigt Plasma a eine ca. 25 % (= 30 %r_A) niedrigere Lyse als bei Kv - Plasma c eine ca. 23 % (= 30 %r_C) niedrigere Lyse als bei Kv -, im 7. Testmonat zeigt Plasma a eine ca. 20 % (= 24 %r_A) niedrigere Lyse als bei Kv - Plasma c eine ca. 13 % (= 17 %r_C) niedrigere Lyse als bei Kv - .

Dieser Unterschied der Lyse % zwischen Zv und Kv ist rechnerisch zurückzuführen auf:

eine im 3. Testmonat etwas niedrigere Norm E (0.506) des Zv gegenüber Kv (0.525), die während der restlichen Beobachtungszeit weiter sinkt und eine bei Zv höhere Lyse E, die vom 1. bis zum 3. Testmonat zunimmt, dann aber etwa parallel Kv verläuft.

cc. SFP aufbewahrt bei Zimmertemperatur (+ 20 °C) in den Plastikhüllen unverschlossen (Zo) (Tab. 7)

Im Vergleich zu Kv zeigt im 3. Testmonat , Zo, (Ch 50 = 3 Monate, Plasma = 2 Monate alt; SFP = 2.5 Monate bei Zo aufbewahrt), nach Aktivierung mit 100 E SK, Plasma a eine ca. 35 % (= 42 %r_A) niedrigere Lyse als Kv
- Plasma c eine ca. 35 % (= 43 %r_C) niedrigere Lyse als Kv, nach Aktivierung mit 10 E SK, Plasma a eine ca. 36 % (= 43 %r_A) niedrigere Lyse als Kv
- Plasma c eine ca. 35 % (= 45 %r_C) niedrigere Lyse als Kv,
im 4. Testmonat, Zo, nach Aktivierung mit 100 E SK, Plasma a eine ca. 52 % (= 63 %r_A) niedrigere Lyse als Kv
- Plasma c eine ca. 47 % (= 61 %r_C) niedrigere Lyse als Kv.
Den Vergleich Zo - Zv zeigt Tabelle 7.

d. Lysevergleich (%) zwischen dem Gefrierplasma einer Person (c) und dem von 10 Personen (Mischplasma m),
(ASK-Titer = 30 E) (Abb. 16)

Zwischen dem Gefrierplasma einer Person und dem Misch-Gefrierplasma von 10 Personen zeigt sich bei gleichem ASK-Titer der beiden Plasmen kein Unterschied.

Alter der Ch 50 (Monate)	a: Lysedifferenz zwischen Zo und						82.6% = 100%r _A
	<u>Zv</u>			<u>Kv</u>			
	10 E	SK	100 E	10 E	SK	100 E	
3	9		8	36		35	%
	(11)		(10)	(43)		(42)	%r _A
4	20		22	49		52	%
	(24)		(27)	(59)		(63)	%r _A
5	19		21	43		47	%
	(23)		(25)	(52)		(57)	%r _A

Alter der Ch 50 (Monate)	c: Lysedifferenz zwischen Zo und						76.6 % = 100 %r _C
	<u>Zv</u>			<u>Kv</u>			
	10 E	SK	100 E	10 E	SK	100 E	
3	15		15	35		33	%
	(19)		(19)	(45)		(43)	%r _C
4	18		23	40		47	%
	(24)		(30)	(52)		(61)	%r _C
5	14		20	33		42	%
	(19)		(26)	(43)		(55)	%r _C

Tab. 7: Monatlicher Vergleich der Lyse % und %r (in Klammern) der Gefrierplasmen a und c bei Aktivierung mit 10 E und 100 E SK, gemessen mit Ch 50; Kv, Zv, Zo. Angabe der Lysedifferenz zwischen Zo-Zv, Zo-Kv, je Monat. -(%r = Relativprozent des Ausgangswertes)

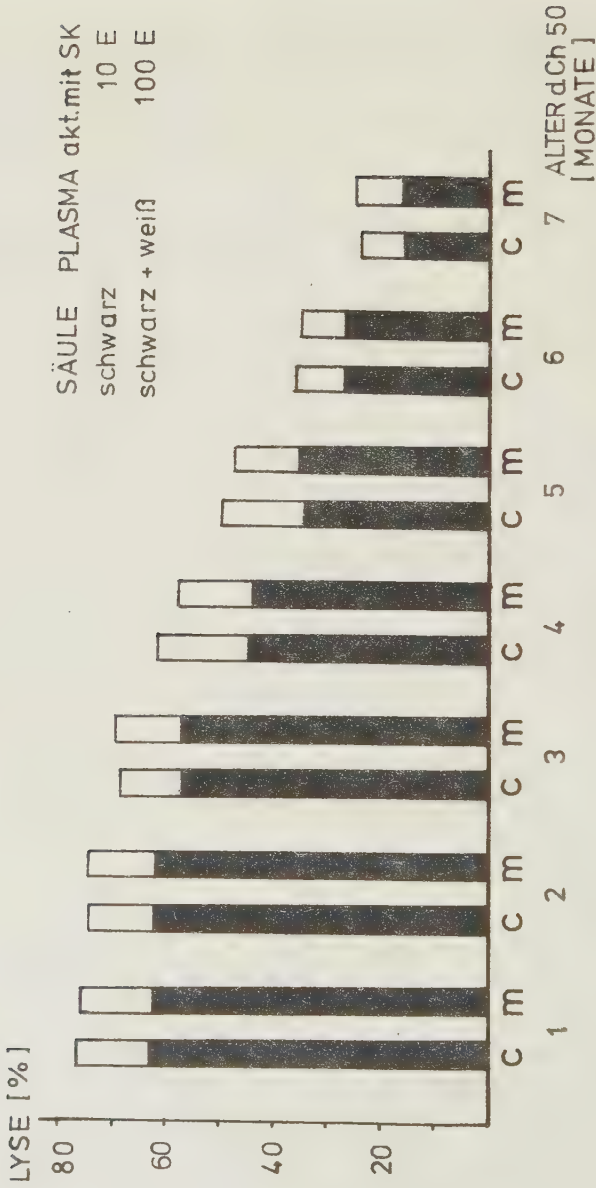


Abb. 16: Vergleich zwischen Einzel- und Mischplasma.

Lyse (%) des Gefrierplasmas einer Person (c) und des Gefrier-Mischplasmas von 10 Personen (m) gleichen ASK-Titers (30 E) nach Aktivierung mit 10 E und 100 E SK, gemessen mit Ch 50, Kv.

C. Vergleich zwischen Frischplasmen (A, B, C) und Gefrierplasmen (a, b, c, m) nach Aktivierung mit 10 E u. 100 E SK

a. Vergleich des Frischplasmas A und des Gefrierplasmas a derselben Person (ASK-Titer =10 E), gemessen mit Ch 50, Kv
(Tab. 14", 17, Seite 77)

aa. Lyseverlauf über 7 Monate (Abb. 17; Tab. 8)

Bei Aktivierung mit 10 E SK zeigt Plasma a eine etwas niedrigere Lyse (%) als Plasma A. Dieser Abstand bleibt fast konstant über 7 Monate (Abb. 17). Vergleicht man mittels t-Test die Mittelwerte (aus je 5 Einzelwerten) der Lyse E von A und a jeden Monat miteinander, so zeigt sich kein signifikanter Unterschied.

Bei Aktivierung mit 100 E SK zeigt Plasma a während der ersten 4 Testmonate eine etwas niedrigere Lyse (%) als Plasma A (Beim t-Test - Vergleich der Mittelwerte (aus je 5 Einzelwerten) der Lyse E von Plasma A und a jeden Monat - zeigt sich kein signifikanter Unterschied), (Tab. 8); vom 5. bis zum 7. Testmonat nimmt der Unterschied zwischen Plasma A und a zu (Beim t-Test - Vergleich der Mittelwerte (aus je 5 Einzelwerten) der Lyse E von Plasma A und a jeden Monat - ist die Lyse E von a signifikant niedriger mit $P < 0.05$ (fg-8) als die Lyse von A. Humanplasma zeigt also etwa 5 Monate nach dem Einfrieren bei -30°C keine wesentlich geringere SK-aktivierbare Lyse als Frischplasma der selben Person.

ab. Vergleich zweier Plasmen gleichen ASK-Titers (Abb. 5, 11)

Zwei Frischplasmen gleichen ASK-Titers und ebenso zwei Gefrierplasmen gleichen ASK-Titers haben nach Aktivierung mit 10 E SK (oder 100 E SK) gleiche Lyse (%).

LYSE [%]

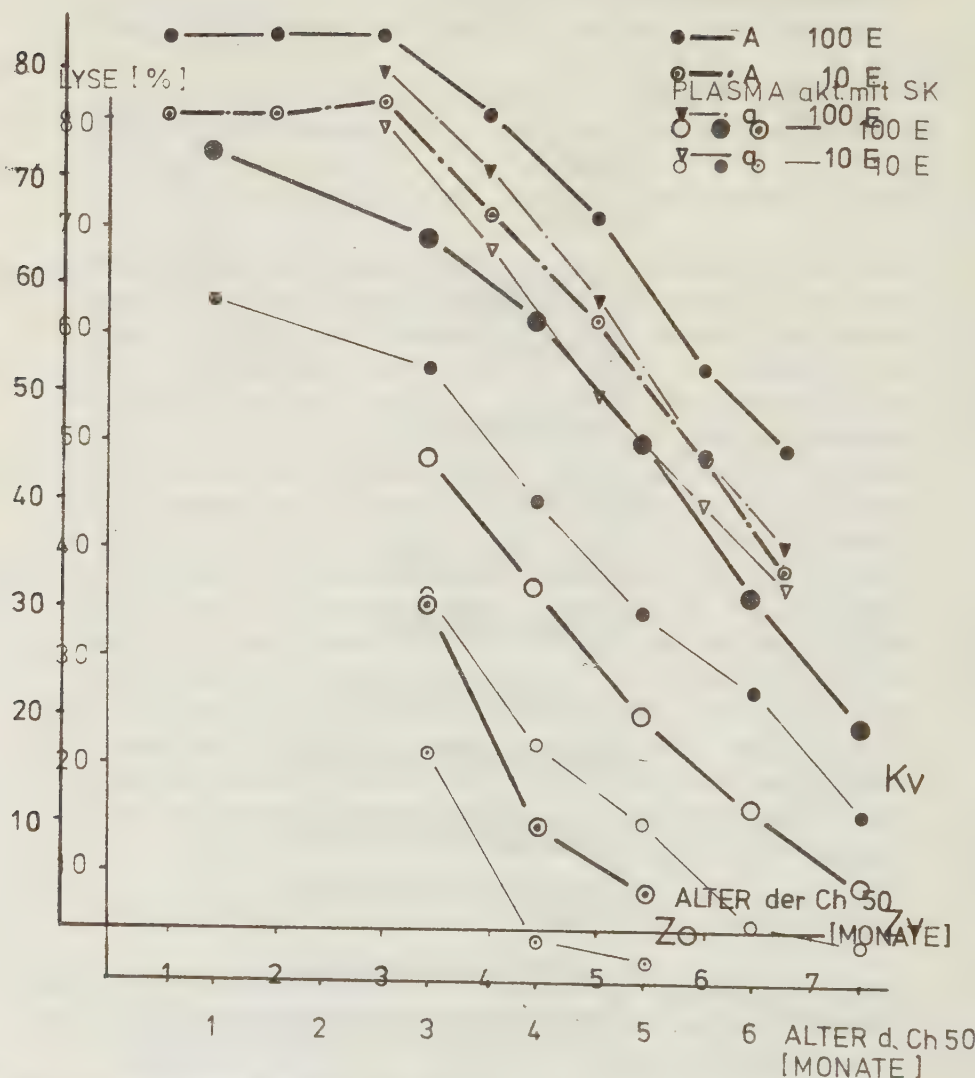


Abb. 17: Vergleich zwischen Frischplasma (A) und Gefrierplasma (a) derselben Person (ASK-Titer-10 E).
Abb. 18: Alterung des SFP bei verschiedener Lagerung.
Lyse (%) des Gefrierplasmas c nach Aktivierung mit 10 E und 100 E SK, gemessen mit Ch 50, Kv.
offen (Zo); +20°C verschlossen (Zv) und +4°C verschlossen (Kv) aufbewahrt wurde.

Alter der Ch 50 (Monate)		A	a	B	b	C	c
3	$\bar{x}$	325	328	323	334	336	348
	Sx	200	200	190	261	207	187
	P <	Ø		0.05		0.05	
4	$\bar{x}$	346	354	348	358	359	371
	Sx	295	270	300	206	346	204
	P <	Ø		Ø		Ø	
5	$\bar{x}$	368	383	374	387	381	396
	Sx	246	302	296	274	248	261
	P <	0.05		0.05		0.05	
6	$\bar{x}$	399	415	398	412	416	430
	Sx	290	316	325	336	354	313
	P <	0.05		0.05		0.05	
7	$\bar{x}$	413	428	413	433	433	446
	Sx	386	398	279	223	254	388
	P <	0.05		0.05		0.05	

Tab. 8: Vergleich zwischen Frisch- und Gefrierplasma derselben Person (A-a, B-b, C-c). A,B,C sind Frischplasmen.
 Monatlicher Vergleich der Mittelwerte $\bar{x}$ (aus je 5 Einzelwerten) der Lyse E nach Aktivierung mit 100 E SK (gemessen mit Ch 50,Kv) mittels t-Test.
 Ø bedeutet: nicht signifikant.

ac. Vergleich der Lyse (%) nach Aktivierung mit 10 E und
100 E SK (Abb. 17)

Im 1. Testmonat zeigt Frischplasma A (das anschließend eingefroren wurde und von da an als Gefrierplasma a bezeichnet wird) beim Vergleich der Mittelwerte (aus je 5 Einzelwerten) der Lyse E jeden Monat nach Aktivierung mit 10 E und 100 E SK einen signifikanten Unterschied von $P < 0.01$ (fg=8). Im 7. Testmonat zeigt Frischplasma A beim Vergleich der Mittelwerte (aus je 5 Einzelwerten) der Lyse E nach Aktivierung mit 10 E und 100 E SK den gleichen Unterschied wie im 1. Testmonat - Gefrierplasma a jedoch keinen signifikanten Unterschied mehr.

b. Vergleich zweier Plasmen mit verschiedenem ASK-Titer
(10 E und 30 E), gemessen mit Ch 50, Kv
(Abb. 18; Tab. 8, 14", 17, Seite 77)

ba. Vergleich des Frischplasmas C und des Gefrierplasmas c
der gleichen Person (ASK-Titer= 30 E) über 7 Monate

Bei Aktivierung mit 10 E SK zeigt Plasma c eine etwas niedrigere Lyse (%) als Plasma C. Dieser Abstand bleibt konstant über 7 Monate. Der t-Test zeigt beim Vergleich der Mittelwerte (aus je 5 Einzelwerten) der Lyse E der Plasmen C und c jeden Monat keinen signifikanten Unterschied.

Bei Aktivierung mit 100 E SK zeigt Plasma c während der ersten 6 Monate eine etwas niedrigere Lyse (%) als Plasma C (t-Test: Die Mittelwerte (aus je 5 Einzelwerten) der Lyse E der Plasmen C und c zeigen bei monatlichem Vergleich keinen signifikanten Unterschied), im 7. Testmonat ist der Mittelwert der Lyse E von Plasma c mit $P < 0.05$ (fg=8) signifikant niedriger als der Mittelwert der Lyse E von Plasma C.

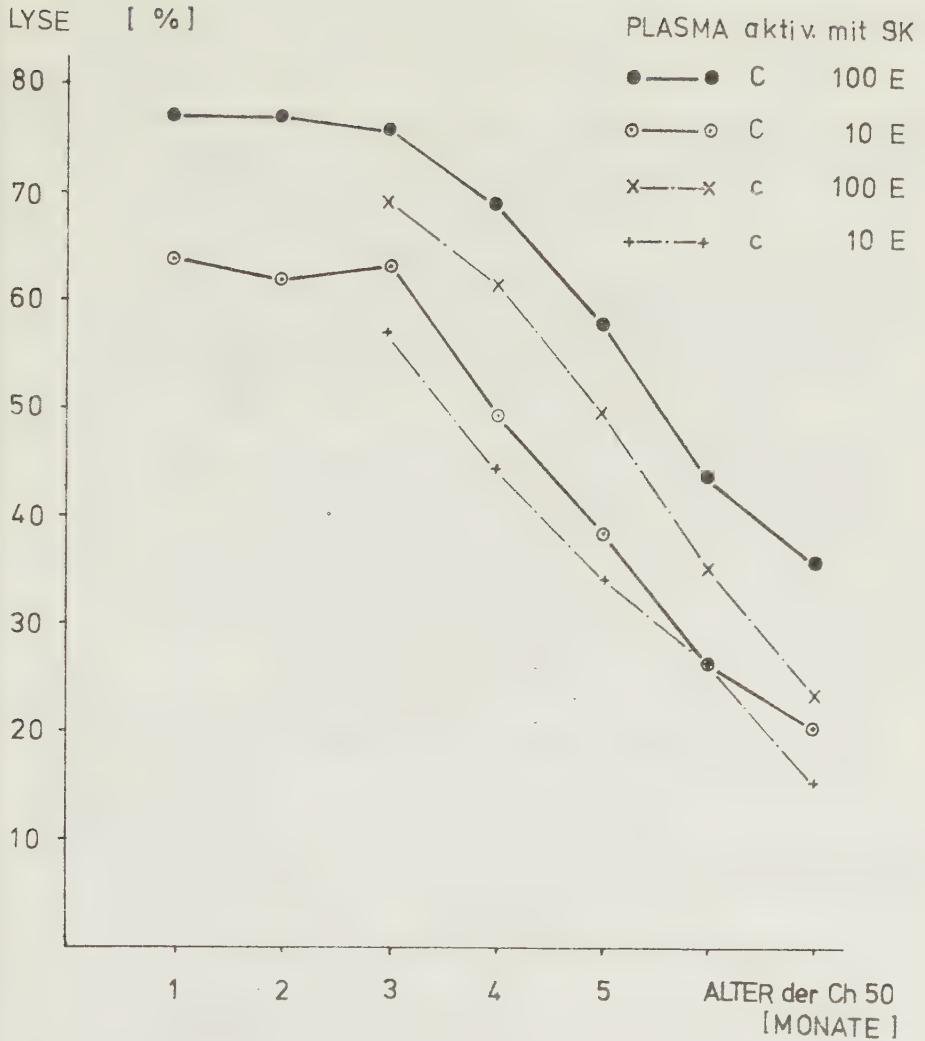


Abb. 18: Vergleich zwischen Frischplasma (C) und Gefrierplasma (c) derselben Person (ASK-Titer=30 E).

Lyse (%) nach Aktivierung mit 10 E und 100 E SK, gemessen mit Ch 50,Kv.

bb. Vergleich des Lyseverlaufs (%) der Plasmen A und C
einerseits und a und c andererseits

Bei Aktivierung mit 100 E SK liegt die Lyse (%) des Frischplasmas C (ASK-Titer= 30 E) ca. 7 % (= 8.5 % r_A bezogen auf Plasma A: 82.6 % = 100 % r_A) niedriger als die von Frischplasma A (ASK-Titer= 10 E). Diese Differenz bleibt etwa konstant über 7 Monate. Bei Gefrierplasmen wird die Differenz über diesen Zeitraum etwas kleiner: Bei Aktivierung mit 100 E SK liegt die Lyse (%) des Gefrierplasmas c (ASK-Titer= 30 E) im 3.Testmonat ca. 10 % (= 12 % r_A), im 6.Testmonat ca. 7.5 % (= 9 % r_A) niedriger als die des Gefrierplasmas a (ASK-Titer= 10 E).

Bei Aktivierung mit 10 E SK liegt die Lyse (%) des Frischplasmas C ca. 15 % (= 18 % r_A) niedriger als die des Frischplasmas A. Diese Differenz bleibt konstant über 7 Monate. Bei Gefrierplasmen wird die Differenz über diesen Zeitraum kleiner: Bei Aktivierung mit 100 E SK liegt die Lyse (%) des Gefrierplasmas c im 3.Testmonat ca. 17 % (= 20 % r_A) niedriger als die des Gefrierplasmas a.

bc. Vergleich der Lyse (%) nach Aktivierung mit 10 E und
100 E SK

Bei Frischplasmen bleibt die Lysedifferenz (%) zwischen Aktivierung mit 10 E und 100 E SK konstant über 7 Monate:

bei Plasma A ca. 8 %, bei Plasma C ca. 16 %.

Bei Gefrierplasmen verringert sich die Lysedifferenz (%) zwischen Aktivierung mit 10 E und 100 E SK über 7 Monate:

Plasma a : im 1.Testmonat beträgt sie 8 % (= 10 % r_A),
im 7.Testmonat beträgt sie 2 % (= 2.5 % r_A),
Plasma c : im 1.Testmonat beträgt sie 16 % (= 20 % r_C),
im 7.Testmonat beträgt sie 7 % (= 9 % r_C).

c. Lyseverlauf von Frisch- und Gefrierplasmen über 7 Monate,
gemessen mit Ch 50, deren SFP bei Kv,Zv,Zo aufbewahrt
wurde (Abb.19,20; Tab. 14",17,,20,22, Seite 77 ff)

ca. Aufbewahrung des SFP bei Kühlschranktemperatur (+ 4°C)
in den Plastikhüllen verschlossen (Kv)

Diese Aufbewahrung ergibt hinsichtlich der Haltbarkeit des SFP die besten Resultate. Die Lyse des Gefrierplasmas a ist bei Aktivierung mit 10 E SK etwas niedriger als die Lyse (%) des Frischplasmas A — Vergleich der Lyse E - Mittelwerte (aus je 5 Einzelwerten) der Plasmen A und a je Monate mittels t-Test ergibt keinen signifikanten Unterschied — . Die Lysedifferenz zwischen Plasma A und a (bei Aktivierung mit 100 E SK) nimmt vom 1.Testmonat bis zum 7.Testmonat zu.

cb. Aufbewahrung des SFP bei Zimmertemperatur (+ 20°C)
in den Plastikhüllen verschlossen (Zv)

Gefrierplasma a (Zv) zeigt bei Aktivierung mit 10 E SK vom 3. bis zum 7.Testmonat eine um ca. 10 % (= 12 %r_A) niedrigere Lyse (%) als Frischplasma A (Zv), bei Aktivierung mit 100 E SK vom 3. bis 7.Testmonat eine um ca. 12 % (= 14 %r_A) niedrigere Lyse (%) als Frischplasma A (Zv).

cc. Aufbewahrung des SFP bei Zimmertemperatur (+ 20°C)
in den Plastikhüllen unverschlossen (Zo)

Gefrierplasma a (Zo) zeigt bei Aktivierung mit 10 E SK vom 3. zum 4.Testmonat einen starken Lyseabfall (ebenso wie Frischplasma A,Zo); dabei wächst die Lysedifferenz zwischen Plasma A und a von 3 % (= 3.6 %r_A) auf 5 % (= 6 %r_A); bei Aktivierung mit 100 E SK zeigt Plasma a vom 3. zum 4. Testmonat einen steilen Lyseabfall (stärker als bei Frischplasma A,Zo). Die Differenz zwischen A und a wächst von 5 % (= 6 %r_A) auf 15 % (= 18 %r_A).

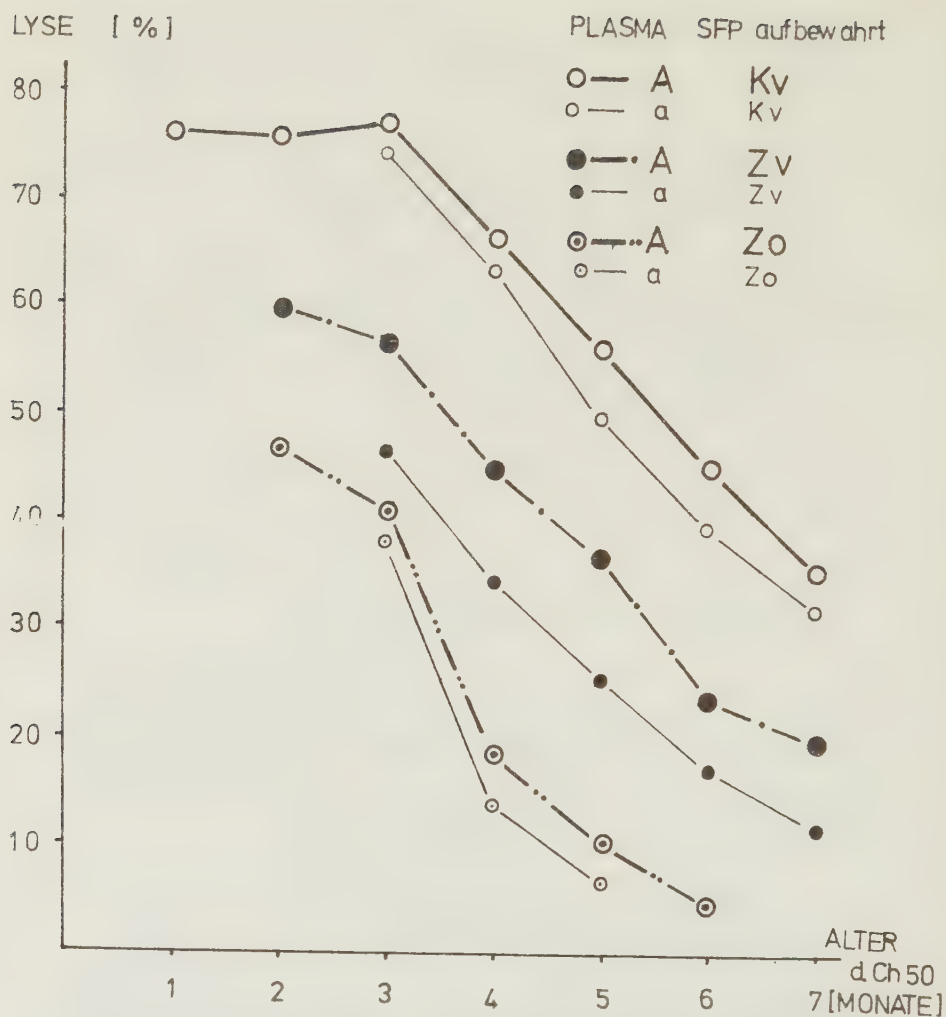


Abb. 19: Alterung des SFP bei verschiedener Lagerung. Vergleich zwischen Frisch- und Gefrierplasma (A,a) einer Person. Lyse (%) nach Aktivierung mit 10 E SK, gemessen mit Ch 50, deren SFP bei +20°C offen (Zo), +20°C verschlossen (Zv) und +4°C verschlossen (Kv) aufbewahrt wurde.

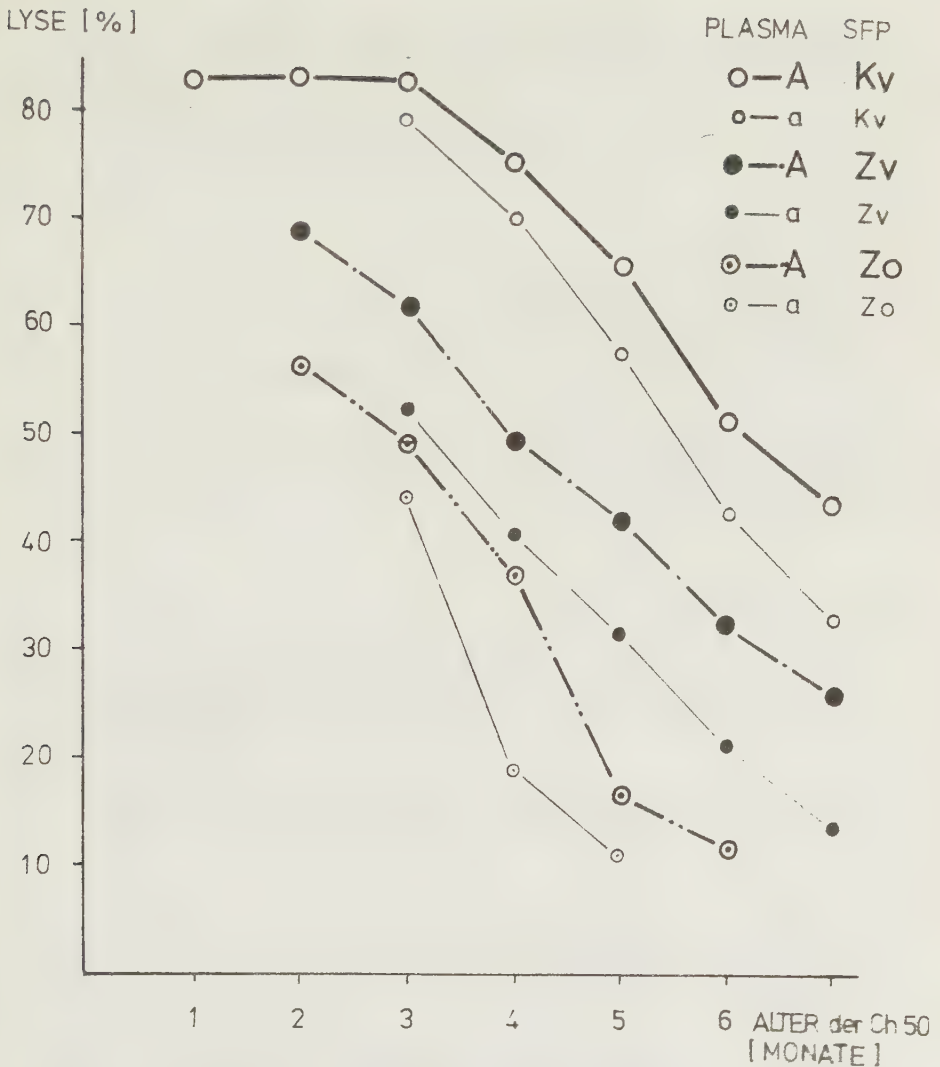


Abb. 20: Alterung des SFP bei verschiedener Lagerung. Vergleich zwischen Frisch- und Gefrierplasma (A,a) einer Person. Lyse (%) nach Aktivierung mit 100 E SK, gemessen mit Ch 50, deren SFP bei +20°C offen (Zo), +20°C verschlossen (Zv) und bei +4°C verschlossen (Kv) aufbewahrt wurde.

d. Statistik der Norm E und Papier T bei Ch 50 und Ch 80,
Vergleich zwischen Frisch- und Gefrierplasmen

(Tab. 9-13)

In den Tabellen 9 bis 13 werden folgende Abkürzungen verwendet:

1. Frischplasmen: A,B,C
2. Gefrierplasmen: a,b,c,m
3. Beobachtungszeit (in Monaten): t
4. Anzahl der Einzelmeßwerte : n
(jeweils 5 Einzelmeßwerte je Monat)
5. Arithmetischer Mittelwert aller Extinktionswerte: $\bar{x}$
6. Summe der Abweichungsquadrate: S_x
7. Standardabweichung: s
8. Mittlerer Fehler des Mittelwertes: SE
9. Variationskoeffizient (in %): V

Sämtliche Extinktionswerte wurden mit 10^{+3} multipliziert.

da. Norm E, Ch 50 (Kv), über 7 Testmonate (Juni-Dezember)-
Vergleich zwischen Frischplasma C und Gefrierplasma m
(ASK-Titer je 30 E) (Tab. 9)

Die Standardabweichung mit standard error sämtlicher Werte
über 7 Monate je Plasma ist für C etwas kleiner als für m
(Tab.9) :

$$C: \bar{x} = 507 ; \quad s \pm SE = 13.0 \pm 2.19 ;$$

$$m: \bar{x} = 506 ; \quad s \pm SE = 13.2 \pm 2.23 ;$$

ebenso der Variationskoeffizient:

$$C: V = 2.5 \% ; \quad m: V = 2.63 \% ;$$

db. Norm E, Ch 50 (Kv), über 5 Testmonate (August bis Dezember) - Vergleich zwischen Frisch- und Gefrierplasma der
selben Person: A-a; B-b; C-c (Tab. 10)

Der Mittelwert aller Norm F-Einzelwerte eines Plasmas liegt bei Frischplasma höher als bei Gefrierplasma der selben Person (Tab.10):

A: $\bar{x} = 527$; a: $\bar{x} = 517$; C: $\bar{x} = 514$; c: $\bar{x} = 503$.

Standardabweichung und standard error liegen bei Frischplasma etwas niedriger (ca. 12.1 ± 2.4) als bei Gefrierplasma (ca. 12.6 ± 2.5).

dc. Papier E, Ch 50 (Kv), über 7 Testmonate (Juni-Dezember)-
Vergleich zwischen Frischplasma C und Gefrierplasma m
(ASK-Titer= 30 E) (Tab. 11)

Zwischen Frisch- und Gefrierplasma zeigt sich kaum ein Unterschied bezüglich Mittelwert, Standardabweichung und Variationskoeffizient (Tab.11).

de. Papier E, Ch 80 (Kv), über 4 Testmonate (Sept.-Dez.)-
Vergleich zwischen Frisch- und Gefrierplasmen (Tab. 12)

Zwischen Frisch- und Gefrierplasmen zeigt sich kaum ein Unterschied bezüglich Mittelwert, Standardabweichung und Variationskoeffizient (Tab.12).

df. Norm E, Ch 80 (Kv), über 4 Testmonate (Sept.-Dez.) -
Vergleich zwischen Frisch- und Gefrierplasmen (Tab. 13)

Der Mittelwert der Norm E liegt bei Frischplasmen höher als bei Gefrierplasmen (Ursache dürfte eine Alterung des Gefrierplasmas sein, das etwa ab dem 6.Testmonat eine Abnahme der SK-aktivierbaren Lyse (%) zeigt), während der Variationskoeffizient niedriger liegt (Tab.13).

	A	B	C	m
t (Monate)	7	7	7	7
n	35	35	35	35
$\bar{x}$	523	528	507	506
Sx	5673	5643	5833	5925
s	12.9	12.9	13.0	13.2
SE	2.18	2.18	2.19	2.23
V (%)	2.47	2.44	2.50	2.63

Tab. 9: Statistik der Norm E, Ch 50, Kv, über 7 Monate;
Frischplasmen A,B,C; Gefrierplasma m.

	A	B	C	a	b	c	m
t (Monate)	5	5	5	5	5	5	5
n	25	25	25	25	25	25	25
$\bar{x}$	527	529	514	517	514	506	503
Sx	3432	3439	3733	4014	3737	4047	3787
s	12.0	12.0	12.2	12.6	12.5	12.7	12.6
SE	2.4	2.4	2.4	2.5	2.5	2.5	2.5
V (%)	2.28	2.27	2.34	2.43	2.43	2.49	2.50

Tab. 10: Statistik der Norm E, Ch 50,Kv, über 5 Monate.
Frischplasmen A,B,C; Gefrierplasmen a,b,c,m.

	A	B	C	m
t (Monate)	7	7	7	7
n	35	35	35	35
$\bar{x}$	282	282	282	282
Sx	1302	1306	1325	1294
s	6.20	6.30	6.25	6.20
SE	1.05	1.06	1.06	1.05
V (%)	2.20	2.22	2.21	2.20

Tab. 11: Statistik der Papier E (Leerwerte), Ch 50,Kv, über 7 Monate. Frischplasmen A,B,C; Gefrierplasma m.

	A	B	C	a	b	c
t (Monate)	4	4	4	4	4	4
n	20	20	20	20	20	20
$\bar{x}$	207	207	207	207	207	207
Sx	407	392	402	384	414	392
s	4.66	4.54	4.61	4.51	4.67	4.54
SE	1.04	1.01	1.03	1.00	1.04	1.01
V (%)	2.25	2.19	2.22	2.18	2.25	2.19

Tab. 12: Statistik der Papier E, Ch 50,Kv, über 4 Monate. Frischplasma A,B,C. Gefrierplasmen a,b,c.

	A	B	C	a	b	c	m
t (Monate)	4	4	4	4	4	4	4
n	20	20	20	20	20	20	20
$\bar{x}$	548	550	531	519	520	510	511
Sx	2978	3031	2717	2891	2829	2879	2905
s	12.5	12.6	12.0	12.3	12.2	12.3	12.4
SE	2.8	2.8	2.7	2.8	2.7	2.7	2.8
V (%)	2.28	2.29	2.26	2.37	2.35	2.41	2.42

Tab. 13: Statistik der Norm E, Ch 80, Kv, über 4 Monate (Sept.-
Dez.). Frischplasmen A,B,C. Gefrierplasmen a,b,c,m.

Testmonat Nr.	Alter der Charge (Monate)			Alter des Gefrier- plasmas (Monate)
	Ch 50	Ch 80	Ch 100	
1	1			0
2	2			1
3	3			2
4	4	1		3
5	5	2		4
6	6	3	1	5
7	7	4	2	6

Tab. 14¹: Relation zwischen Alter der Charge und Alter
des Gefrierplasmas bei Bestimmung der Lyse(%)
von Gefrierplasmen.

D. Vergleich dreier Chargen verschiedenen Herstellungsdatums

a. Vergleich der Lyse % der Chargen 50, 80, 100 (Tab.14')

aa. Lyseverlauf eines Plasmas nach Aktivierung mit 10 E und 100 E SK

Frischplasmen A,B,C: (Abb. 21,22)

Die Lysekurven eines Frischplasmas, gemessen mit Ch 50, 80, 100 verlaufen bei gleichem Chargenalter je Vergleichsmonat parallel (Abb.21,22), nicht jedoch genau gleich, da Norm E, Papier E und Lyse E bei den 3 Chargen verschieden liegen:

Frischplasma A und B (SFP = Kv):

Charge	Papier E	Norm E	Lyse E (10 E)	Lyse E (100 E)
50	276-288	508-538	335-438	318-413
80	204-208	554-539	339-367	316-344
100	228-234	630-636	450-452	431-433

Gefrierplasma a und b (SFP = Kv):

Charge	Papier E	Norm E	Lyse E (10 E)	Lyse E (100 E)
50	277-290	525-501	340-439	323-428
80	204-210	510-527	340-372	322-364
100	228-235	586-609	444-451	438-444

Die Extinktionswerte erstrecken sich über 7 Monate bei Ch 50, über 4 Monate bei Ch 80 und über 2 Monate bei Ch 100. Es wurden jeweils die Extremwerte (jeweils ein Mittelwert aus 5 Einzelwerten) angegeben. Sämtliche Extinktionswerte wurden mit 10^{+3} multipliziert.

Gefrierplasmen a,b,c,m: (Abb. 23,24; Tab. 14',Seite 70)

Die Lysekurven eines Gefrierplasmas, gemessen mit Ch 50, 80, 100, verlaufen bei gleichem Chargenalter je Vergleichsmonat nicht parallel wie die des Frischplasmas (Abb.23,24).

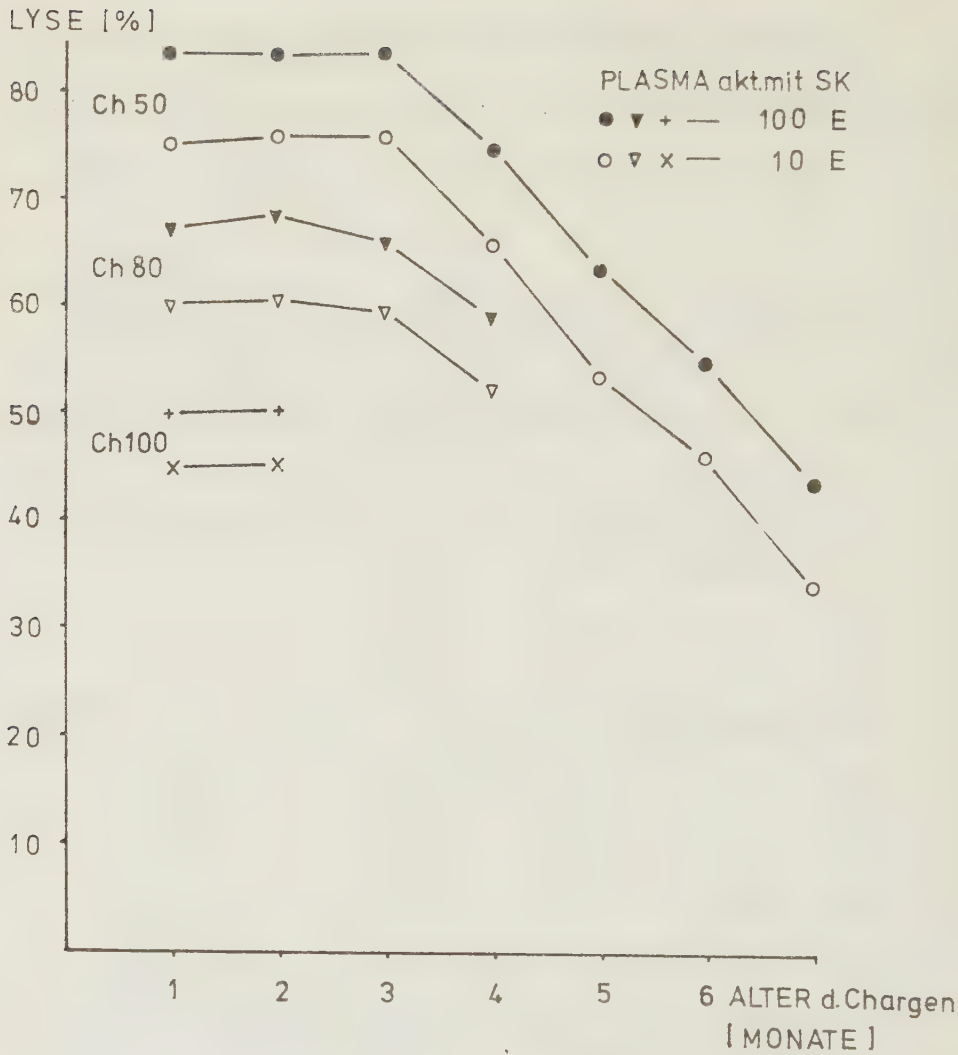


Abb. 21: Vergleich dreier Chargen verschiedenen Herstellungsdatums.
Lyse (%) des Frischplasmas B (ASK-Titer=10 E) nach
Aktivierung mit 10 E und 100 E SK, gemessen mit Charge 50,
80 und 100.

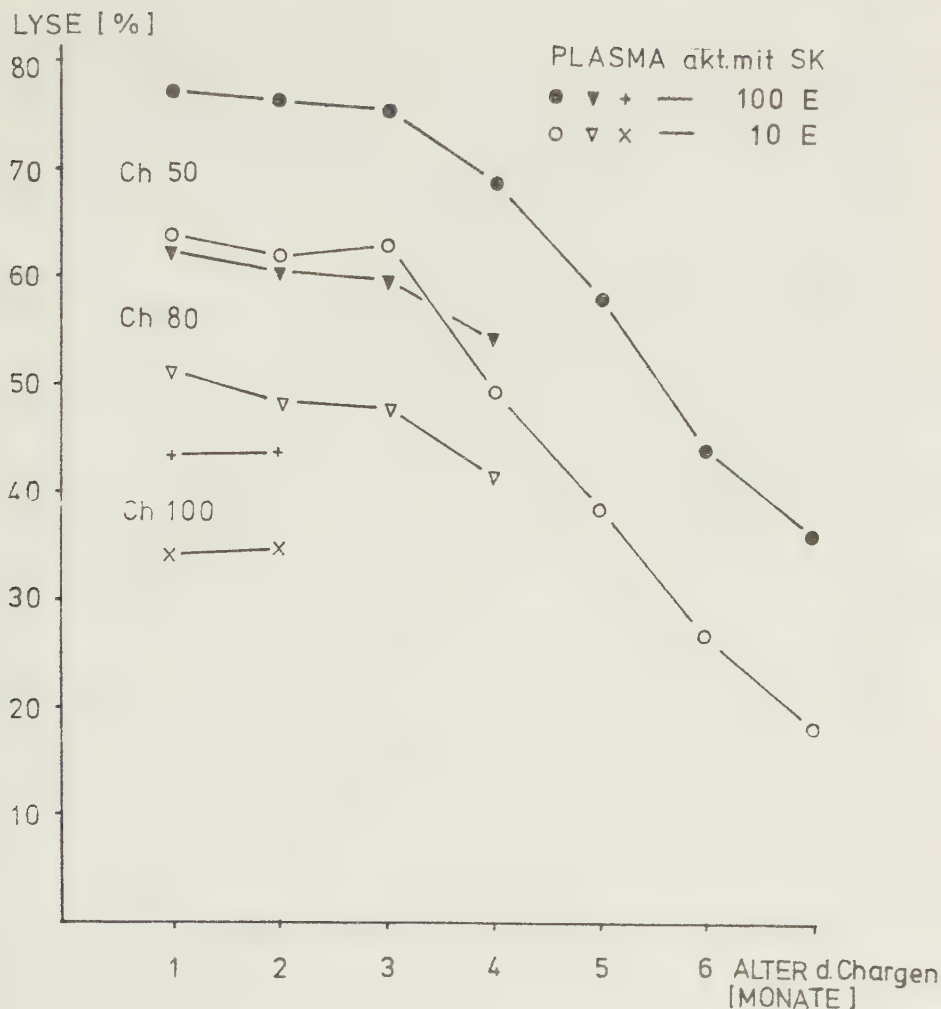


Abb.22: Vergleich dreier Chargen verschiedenen Herstellungsdatums.
 Lyse (%) des Frischplasmas C (ASK-Titer=30 E) nach
 Aktivierung mit 10 E und 100 E SK, gemessen mit Charge 50,
 80, 100.

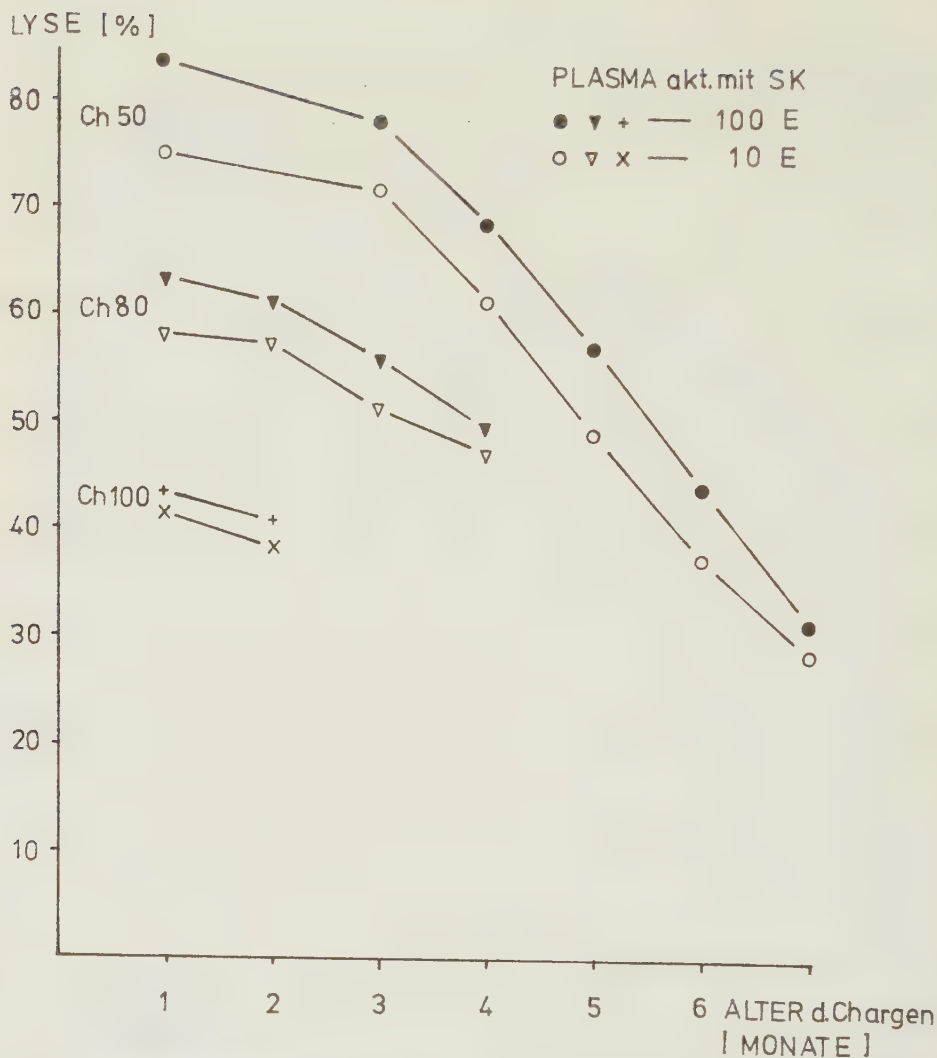


Abb. 23: Vergleich dreier Chargen verschiedenen Herstellungsdatums. Lyse (%) des Gefrierplasmas b (ASK-Titer=10 E) nach Aktivierung mit 10 E und 100 E SK, gemessen mit Ch 50, 80, 100. - Alter des Gefrierplasmas siehe Tab.14'.

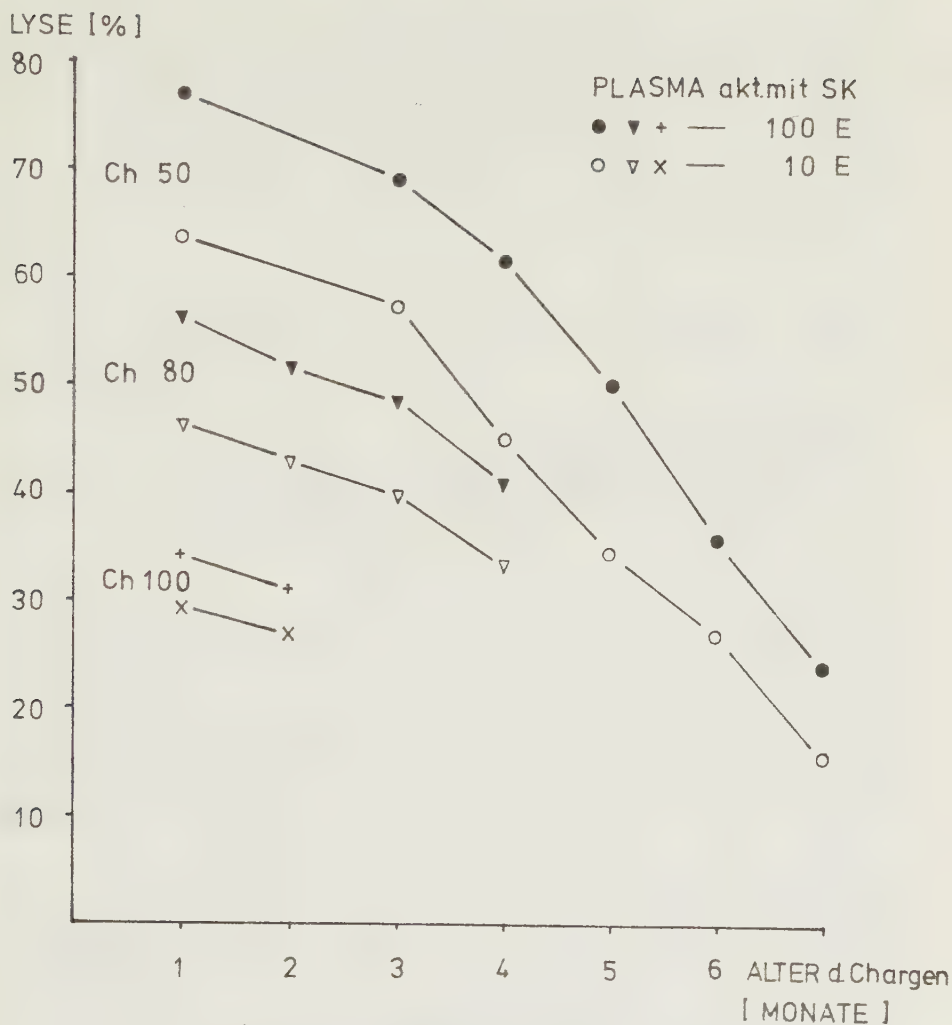


Abb. 24: Vergleich dreier Chargen verschiedenen Herstellungsdatums. Lyse (%) des Gefrierplasmas c (ASK-Titer=30 E) nach Aktivierung mit 10 E und 100 E SK, gemessen mit Charge 50, 80, 100. - Alter des Gefrierplasmas siehe Tab.14'.

Ursache: Beim Frischplasma werden die Lysewerte gleichalter Chargen übereinander gezeichnet, wobei das Plasma (jeweils maximal 2 Stunden alt) gleichalt war. Beim Gefrierplasma dagegen wurden die Lysewerte gleichalter Chargen übereinander gezeichnet, wobei das Plasma jeweils verschieden alt war. Aus diesem Grunde sinkt die Lysekurve des Gefrierplasmas bei Ch 80 mehr als bei Ch 50 und bei Ch 100 mehr als bei Ch 80 (Tab.14',Seite 70).

ab. Vergleich der Lyse (%) eines Plasmas nach Aktivierung mit 10 E und 100 E SK, gemessen mit 3 Chargen, Kv

(Tab. 14" - 19)

Frischplasmen A,B,C siehe Tabelle 14'' (Ch 50), Tabelle 15 (Ch 80), Tabelle 16 (Ch 100).

Vergleicht man die Lysewerte (%) des Plasmas A dieser 3 Chargen in den Tabellen, so zeigt sich, daß nach Aktivierung mit 10 E SK (bei 1 Monat altem SFP) die Lyse (%) bei Ch 50 = 75.3 %, bei Ch 80 = 60.5 %, bei Ch 100 = 45.6 % beträgt, nach Aktivierung mit 100 E SK (bei 1 Monat altem SFP) die Lyse (%) bei Ch 50 = 82.6 %, bei Ch 80 = 67.5 %, bei Ch 100 = 50.4 % beträgt.

Es besteht also zwischen den Chargen ausgehend von Ch 80 als Mittelwert jeweils ein Unterschied von 15 % zu Ch 50 und 100. Die Abstände bleiben konstant über die vergleichbare Beobachtungszeit. Bei Umrechnung der Lyse % in Relativprozent (%r) zeigen alle 3 Chargen fast gleiche Werte (%r).

Gefrierplasmen a, b, c, m siehe Tabelle 17 (Ch 50), Tabelle 18 (Ch 80), Tabelle 19 (Ch 100).

Vergleicht man die Lysewerte des Plasmas a dieser 3 Tabellen, so zeigt sich, daß nach Aktivierung mit 10 E SK (bei 2 Monate altem SFP) die Lyse (%) bei Ch 50 = 74 %, bei Ch 80 = 56.6 %, bei Ch 100 = 39.6 % beträgt, nach Aktivierung mit 100 E SK (bei 2 Monate altem SFP) die Lyse (%) bei Ch 50 = 79.6 %, bei Ch 80 = 59.3 %, bei Ch 100 = 41 % beträgt.

Von Ch 80 besteht zu Ch 50 und 100 jeweils ein Unterschied von ca. 18 %.

Alter der Ch 50 (Monate)	A		B		C	
	10 E	100 E	10 E	100 E	10 E	100 E
1	75.3	82.6	74.9	83.2	63.3	76.6
2	75.2	82.4	75.5	83.0	61.5	76.2
3	76.5	82.7	75.4	83.2	62.7	75.3
4.	66.4	75.4	65.3	74.1	49.2	68.7
5	56.0	65.7	53.2	63.2	38.2	57.7
6	43.5	51.8	45.7	54.6	26.3	43.6
7	35.4	44.3	33.7	42.2	17.8	35.8
ASK-Titer	10 E				30 E	

Tab. 14: Lyse % der Frischplasmen A,B,C nach Aktivierung mit 10 E und 100 E SK, gemessen mit Ch 50,Kv, über 7 Monate.

Alter der Ch 80 (Monate)	A		B		C	
	10 E	100 E	10 E	100 E	10 E	100 E
1	60.5	67.5	60.0	67.1	51.1	62.2
2	60.8	67.6	60.4	68.2	48.1	60.7
3	59.4	65.7	59.1	65.8	47.8	59.9
4	53.1	60.2	52.0	58.9	41.5	54.2
ASK-Titer	10 E				30 E	

Tab. 15: Lyse % der Frischplasmen A,B,C nach Aktivierung mit 10 E Und 100 E SK, gemessen mit Ch 80,Kv, über 4 Monate.

Alter der Ch 100 (Monate)	A		B		C		
	10 E	100 E	10 E	100 E	10 E	100 E	
1	45.6	50.4	44.9	49.5	34.0	43.3	Kv
2	45.8	50.5	45.0	50.0	34.8	43.5	
2	37.2	41.7	35.1	39.7	25.8	35.3	Zv
2	28.8	34.7	28.6	33.8	20.6	28.5	Zo
ASK-Titer	10 E				30 E		

Tab. 16: Lyse % der Frischplasmen A,B,C nach Aktivierung mit 10 E und 100 E SK, gemessen mit Ch 100, Kv, Zv, Zo, über 2 Monate.

Alter der Ch 50 (Monate)	a		b		c		m	
	10 E	100 E	10 E	100 E	10 E	100 E	10 E	100 E
1 (0) ⁺	75.3	82.6	74.9	83.2	63.3	76.6	62.6	75.5
2 (2)	74.4	79.6	71.1	77.5	57.0	68.7	57.1	69.5
4 (3)	63.1	70.4	60.1	68.0	44.8	61.4	43.6	57.2
5 (4)	49.6	58.4	48.2	56.2	34.2	49.8	35.0	47.2
6 (5)	39.3	43.2	36.8	43.4	26.6	35.4	26.6	34.9
7 (6)	31.6	33.0	27.8	30.5	15.4	23.5	15.0	24.8
ASK-Titer	10 E				30 E			

Tab. 17: Lyse % der Gefrierplasmen a,b,c,m, nach Aktivierung mit 10 E und 100 E SK, gemessen mit Ch 50,Kv, über 7 Monate.

)⁺ Alter des Gefrierplasmas (Monate)

Alter der Ch 80 (Monate)	a		b		c		m	
	10 E	100 E	10 E	100 E	10 E	100 E	10 E	100 E
1 (3)+	58.0	63.4	57.9	63.3	46.6	55.9	45.0	54.8
2 (4)	56.6	59.3	56.8	61.0	42.6	51.5	42.1	50.2
3 (5)	50.2	54.4	50.8	55.4	39.6	48.3	40.4	48.3
4 (6)	47.2	50.3	46.9	49.2	32.9	40.7	31.7	40.0
ASK-Titer	10 E				30 E			

Tab. 18: Lyse % der Gefrierplasmen a,b,c,m, nach Aktivierung mit 10 E und 100 E SK, gemessen mit Ch 80,Kv, über 4 Monate.

Alter der Ch 100 (Monate)	a		b		c		m		
	10 E	100 E	10 E	100 E	10 E	100 E	10 E	100 E	
1 (5)+	43.4	44.8	41.2	43.2	29.8	34.1	28.9	33.8	Kv
2 (6)	39.6	41.0	38.2	40.2	26.8	30.9	27.6	31.6	
2 (6)	29.0	31.6	27.5	29.1	19.1	23.0	19.5	23.6	Zv
2 (6)	24.8	26.9	21.8	24.0	14.0	18.4	13.7	17.0	Zo
ASK-Titer	10 E				30 E				

Tab. 19: Lyse % der Gefrierplasmen a,b,c,m nach Aktivierung mit 10 E und 100 E SK, gemessen mit Ch 100,Kv, Zv, Zo, über 2 Monate.

+ Alter des Gefrierplasmas (Monate).

Vergleicht man damit die Lysewerte (%) bei 4 Monate altem SFP, so zeigt sich eine Zunahme der Lysedifferenz zwischen Ch 50 und Ch 80, was auf dem bei Ch 80 bereits älteren Gefrierplasma gegenüber Ch 50 (bei gleichem SFP-Alter) beruht.

ac. Vergleich der Lyse (%) nach Aktivierung eines Plasmas mit 10 E und 100 E SK, gemessen mit Ch 50,80,100 (Zv,Zo)

(Tab. 16,19 - 23)

Frischplasmen A,B,C siehe Tabelle 20 (Ch 50), Tabelle 21 (Ch 80), Tabelle 16 (Ch 100).

Vergleicht man die Lyse (%) des Plasmas A dieser 3 Tabellen, so zeigt sich (bei 2 Monate altem SFP, 1.5 Monate bei Zv und Zo aufbewahrt) nach Aktivierung mit 10 E SK folgende Lyse (%): bei Ch 50 = 59.7 % Zv (46.8 % Zo), bei Ch 80 = 48.9 % Zv (35.9 % Zo), bei Ch 100 = 37.2 % Zv (28.8 % Zo), und nach Aktivierung mit 100 E SK folgende Lyse (%): bei Ch 50 = 69.0% Zv (56.6 % Zo), bei Ch 80 = 54.6 %Zv(44.3 % Zo), bei Ch 100 = 41.7 %Zv(34.7 % Zo).

Von der Lyse (%) der Ch 80 zur Lyse der Ch 50 und 100 besteht jeweils ein Unterschied von ca. 13 % bei Zv und von ca. 10 % bei Zo. Diese Abstände bleiben konstant über die vergleichbare Beobachtungszeit, allerdings mit einer sehr großen Schwankungsbreite, da vor allem bei Zo äußere Einwirkungen zum Tragen kommen.

Gefrierplasmen a,b,c,m siehe Tabelle 22 (Ch 50), Tabelle 23 (Ch 80), Tabelle 19 (Ch 100).

Zwischen den einzelnen Chargen (bei gleicher SK-Aktivierung, gleichaltem SFP und gleicher Aufbewahrung des SFP, Gefrierplasma der gleichen Person- allerdings verschieden lang aufbewahrt!) läßt sich kaum mehr ein Vergleich ziehen, da zu viele Variable vorliegen und die vergleichbare Beobachtungszeit zu kurz ist.

Alter der Ch 50 (Monate)	A		B		C		
	10 E	100 E	10 E	100 E	10 E	100 E	
2	59.7	69.0	57.9	68.0	48.2	62.5	Zv
3	56.3	62.2	56.6	62.7	41.0	55.0	
4	44.9	50.0	43.9	49.6	24.0	40.9	
5	36.4	42.4	29.7	38.5	17.2	35.0	
6	23.4	33.0	29.0	36.0	11.3	28.9	
7	19.6	26.4	16.4	22.8	9.8	20.2	
2	46.8	56.6	49.1	56.3	38.0	50.5	Zo
3	40.3	49.5	36.5	47.5	27.5	44.5	
4	18.4	27.3	18.5	25.3	12.5	24.2	
5	10.5	17.3	16.5	21.4	3.2	16.7	

Tab. 20: Lyse % der Frischplasmen A,B,C, nach Aktivierung mit 10 E und 100 E SK, gemessen mit Ch 50,Zv,Zo.

Alter der Ch 80 (Monate)	A		B		C		
	10 E	100 E	10 E	100 E	10 E	100 E	
1	56.5	62.4	54.0	51.7	45.1	56.4	Zv
2	48.9	54.6	47.9	53.3	37.0	49.0	
3	42.5	50.0	41.6	49.4	30.2	43.4	
4	33.2	40.0	31.2	37.4	19.6	32.8	
1	44.7	53.2	45.5	51.5	36.8	49.9	Zo
2	35.9	44.3	35.8	43.4	29.0	39.8	
3	30.5	38.5	27.3	36.0	23.1	33.8	
4	17.5	25.2	18.0	25.9	11.8	21.3	
ASK-Titer	10 E				30 E		

Tab. 21: Lyse % der Frischplasmen A,B,C, nach Aktivierung mit 10 E und 100 E SK, gemessen mit Ch 80, Zv,Zo, über 4 Monate.

Alter der Ch 50 (Monate)	a		b		c		m		
	10 E	100 E	10 E	100 E	10 E	100 E	10 E	100 E	
3 (2) ⁺	46.6	52.6	43.3	52.3	35.9	48.2	35.3	45.5	Zv
4 (3)	34.3	41.0	33.2	39.4	21.9	36.5	20.2	36.6	
5 (4)	29.5	32.0	23.6	22.7	14.8	24.3	13.5	27.4	
6 (5)	17.2	21.8	16.0	25.5	15.3	16.0	3.8	14.2	
7 (6)	11.5	13.9	10.7	14.0	4.5	9.0			
3 (2)	37.7	44.5	35.2	43.3	21.2	35.5	24.8	36.0	Zo
4 (3)	14.0	19.0	14.2	17.3	4.0	14.2	6.8	14.5	
5 (4)	6.8	11.3	8.8	16.4	2.0	8.5	1.0	6.8	
ASK-Titer:			10 E		30 E				

Tab. 22: Lyse % der Gefrierplasmen a,b,c,m nach Aktivierung mit 10 E und 100 E SK, gemessen mit Ch 50, Zv, Zo, über 7 Monate.

Alter d. Ch 80 (Monate)	a		b		c		m		
	10 E	100 E	10 E	100 E	10 E	100 E	10 E	100 E	
1 (3) ⁺	51.2	56.6	49.9	55.4	40.0	48.8	37.4	47.7	Zv
2 (4)	42.8	47.6	43.3	47.6	32.9	41.8	30.2	37.4	
3 (5)	34.7	38.4	34.7	37.9	23.4	30.9	22.9	31.4	
4 (6)	26.2	29.7	25.0	28.2	11.2	18.1	11.5	19.3	
1 (3)	43.5	48.3	42.8	47.0	33.1	42.1	31.0	39.3	Zo
2 (4)	35.9	39.9	34.8	38.2	22.1	29.0	22.3	29.6	
3 (5)	24.5	28.5	24.4	28.4	11.0	16.0	9.0	17.0	
4 (6)	11.5	14.8	10.1	12.0	3.5	9.0	7.0	12.2	

Tab. 23: Lyse % der Gefrierplasmen a,b,c,m, nach Aktivierung mit 10 E und 100 E SK, gemessen mit Ch 80, Zv, Zo, über 4 Monate.
⁺ Alter der Gefrierplasmen (Monate).

- b. Vergleich der Chargen 50,80,100 nach Umrechnung der Lyse (%)
in Relativprozent (%r) des Ausgangswertes (Tab. 24-37)

Relativprozent (%r) bedeutet: Der Lysewert (%) nach Aktivierung mit 100 E SK, gemessen mit 1 Monat altem SFP wird gleich 100 %r gesetzt, wobei in dem Ausdruck %r_A der Buchstabe A das verwendete Plasma angibt; statt A kann auch B oder C (Frischplasmen) oder a,b,c,m (Gefrierplasmen) stehen (Tab. 24).

Beispiel: Bei Frischplasma A, Ch 50, Kv: 82.6 % = 100 %r_A.
Sämtliche Lysewerte (%) eines Plasmas werden also auf dessen Lysewerte (%) mit 1 Monat altem SFP und 100 E SK-Aktivierung bezogen umgerechnet in Relativprozent. (Tab. 25 - 37)

- ba. Vergleich der Relativprozent (%r) bei 3 Chargen (Kv) nach
Aktivierung mit 10 E und 100 E SK (Tab. 26-31)

Frischplasmen A,B,C siehe Tabelle 26 und 27.

Drei Chargen ergeben, wie aus den Tabellen klar zu ersehen ist, gleiche Relativprozent (Bedingung: Frischplasma der selben Person, gleiche SK-Aktivierung, gleich altes und bei Kv (+4°C) aufbewahrtes SFP). Die Schwankung beträgt in der Regel ± 2 %r.

Gefrierplasmen a,b,c,m siehe Tabelle 28 und 29.

Die Relativprozent dreier Chargen sind (vergl.Tab. 28 und 29) gleich (Bedingung: Gefrierplasma derselben Person, nicht älter als 5 Monate, gleiche SK-Aktivierung, gleich altes und bei Kv aufbewahrtes SFP). Die Schwankung beträgt in der Regel ± 2.5 %r, bei älterem Gefrierplasma liegt sie höher.

Lyse Differenz zwischen Aktivierung mit 10 E SK und 100 E SK in Relativprozent bei Frischplasmen siehe Tab.30 und Abb.25, bei Gefrierplasmen siehe Tab.31 und Abb.26,27, bei Frisch- und Gefrierplasmen siehe Abb.28.

Die Lyse Differenz 100 E- 10 E in Relativprozent beträgt bei Frischplasma A (ASK-Titer=10 E) und B in allen drei Chargen ca. 10 %r ± 2 , bei C (ASK-Titer=30 E) in allen drei Chargen ca. 20 %r ± 3 .

Die beiden 25 %r-Werte des Plasmas C, Ch 50 (SFP-Alter = 4 und 5 Monate) dürften zu hoch liegen (Tab. 30).

		Ch 50	Ch 80	Ch 100
Frischplasmen	A	82.6	67.5	50.5
	B	83.1	67.1	49.5
	C	76.6	60.5	43.3
Gefrierplasmen	a	82.6	63.4	44.8
	b	83.2	63.3	43.2
	c	76.6	55.9	34.1
	m	75.5	54.8	33.8

Tab. 24: Lyse % nach Aktivierung mit 100 E SK, gemessen mit SFP (Kv), die je Plasma und Charge jeweils 100 Relativprozent (%r) entsprechen (siehe Tab. 26-37 und Abb. 19, 20, 26, 27). Sämtliche Werte wurden mit 1 Monat altem SFP bestimmt.

		Ch 50	Ch 80	Ch 100
Plasma A	Lyse %	82.6	67.5	50.5
	= %r _A	100.0	100.0	100.0
Plasma C	Lyse %	76.6	60.5	43.3
	= %r _A	92.4	89.6	86.0

Tab. 25: Plasma C (ASK-Titer=30 E) zeigt eine ca. 10% niedrigere Lyse als Plasma A (ASK-Titer=10 E) nach Umrechnung der Lyse % (nach Aktivierung mit 100 E SK) in Relativprozent (%r_A) bezogen auf Plasma A mit Ch 50: $82.6 = 100 \%r_A$. Sämtliche Werte wurden mit 1 Monat altem SFP bestimmt.

Alter der Chargen [Monate]	A			B			C		
	50	90	100	50	80	100	50	80	100
1	91.1	83.6	90.2	90.2	89.3	90.6	82.6	82.0	78.3
2	91.0	90.0	90.6	90.9	90.1	91.0	80.1	77.5	80.1
3	92.3	88.0		90.9	88.0		81.4	76.9	
4	80.4	78.7		78.6	77.5		64.4	66.7	
5	67.8			64.0			50.2		
6	52.6			54.3			34.4		
7	42.8			40.7			23.3		
Lyse % (= je 100 % r)	82.6	67.5	50.5	83.1	67.1	49.5	76.6	60.5	43.3

Tab. 26: Vergleich der Ch 50, 80, 100 (Kv). Frischplasmen A, B, C aktiviert mit 10 E SK.
Beobachtungsdauer 7 Monate. Umrechnung der Lyse % (aktiviert mit 100 E SK im
1. Testmonat = 100 % r) in Relativprozent (%r).

Alter der Ch [Monate]	A			B			C		
	50	80	100	50	80	100	50	80	100
1	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0
2	100.0	100.0	100.0	99.0	102.0	101.0	99.6	97.6	100.4
3	100.0	97.4		100.0	98.0		98.6	96.4	
4	91.3	89.3		89.1	87.8		89.6	87.0	
5	80.2			76.0			75.3		
6	62.7			65.6			57.0		
7	53.7			52.0			47.1		
Lyse % (= je 100 % r)	82.6	67.5	50.5	83.1	67.1	49.5	76.6	60.5	43.3

Tab. 27: Vergleich der Ch 50, 80, 100 (Kv). Frischplasmen A, B, C, aktiviert mit 100 E SK.

Beobachtungsdauer 7 Monate. Umrechnung der Lyse % (aktiviert mit 100 E SK im

1. Testmonat = 100 % r) in Relativprozent (%r).

Alter der Ch [Monate]	a			b			c			m		
	50	80	100	50	80	100	50	80	100	50	80	100
1	91.1	91.5	96.5	90.2	91.5	95.5	84.2	82.2	85.8	82.9	82.1	85.6
2	-	89.2	88.0	-	89.8	88.5	-	76.2	78.6	81.8	76.7	81.6
3	89.7	79.4		85.4	80.4		74.5	71.0		75.5	73.6	
4	76.4	74.4		72.3	74.1		58.5	58.9		57.4	56.0	
5	60.0			58.0			44.7					
6	47.6			44.2			34.8					
7	38.3			33.5			20.1					
Lyse % (= je 100 % r)	82.6	63.4	44.8	83.1	63.3	43.2	76.6	55.9	34.1	75.5	54.8	33.8

Tab. 28: Vergleich der Ch 50, 80, 100 (Kv). Gefrierplasmen a, b, c, m, aktiviert mit 10 E SK.
Beobachtungsdauer 7 Monate. Umrechnung der Lyse % (aktiviert mit 100 E SK im 1. Test-
monat = 100 % r) in Relativprozent (%r).

Alter der Ch [Monate]	a			b			c			m			Plasmen- alter [Monate] Ch 50 80
	50	80	100	50	80	100	50	80	100	50	80	100	
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	
1	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	0
2	-	93.5	91.1	-	96.4	93.0	-	92.1	90.6	99.0	91.6	93.5	1
3	96.4	85.8		93.2	87.2		89.8	86.4		92.2	88.3		2
4	85.3	79.4		81.7	77.8		80.2	72.8		75.7	72.4		3
5	70.6			67.6			65.0						4
6	52.3			52.2			46.3						5
7	40.0			36.7			30.7						6
Lyse % (= 100 % r)	82.6	63.4	44.8	83.1	63.3	43.2	76.6	55.9	34.1	75.5	54.8	33.8	

Tab. 29: Vergleich der Ch 50, 80, 100 (Kv). Gefrierplasmen a, b, c, m aktiviert mit 100 E SK. Beobachtungsdauer 7 Monate. Umrechnung der Lyse % (aktiviert mit 100 E SK in 1. Testmonat = 100 % r) in Relativprozent (%r).

LYSE -Differenz [%r]
nach SK-Aktiv.(100E-10E)

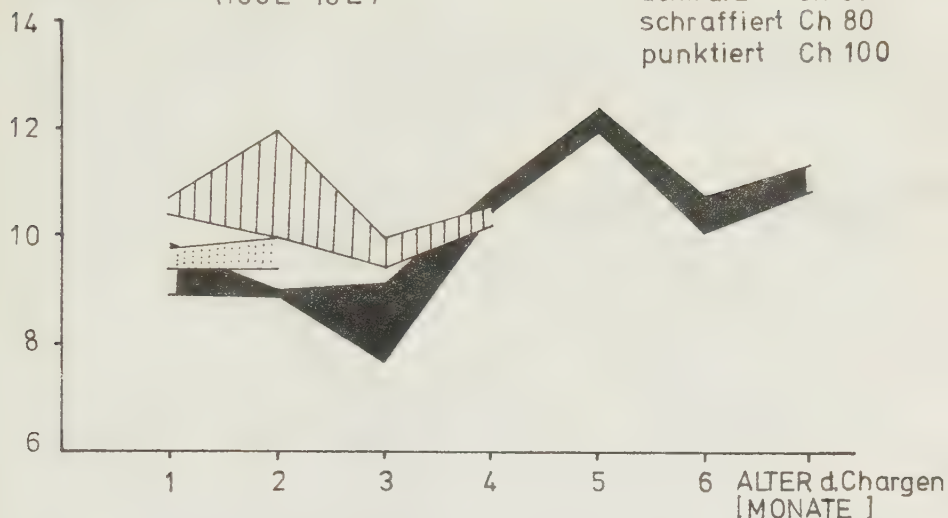


Abb. 25: Vergleich der Lysedifferenzen (Lysedifferenz = Lyse nach Aktivierung mit 100 E SK minus Lyse nach Aktivierung mit 10 E SK) in Relativprozent (%r) des Ausgangswertes zweier Frischplasmen A und B gleichen ASK-Titers (10 E), (vergleiche Tab.30).

Der Unterschied der Lysedifferenzen der Plasmen A und B wird dargestellt als schwarze Fläche (gemessen mit Ch 50), als schraffierte Fläche (Ch 80) und als punktierte Fläche (Ch 100). Jede Fläche wird begrenzt von der Lysedifferenz des Plasmas A und der des Plasmas B.

Man erkennt, daß der Unterschied der Lysedifferenzen - nach Umrechnung in Relativprozent des Ausgangswertes (%r) - zweier Frischplasmen gleichen ASK-Titers bei verschiedenen Chargen bis zu einem Alter von 7 Monaten nicht mehr als maximal 2 % innerhalb einer Charge beträgt. Meist ist der Unterschied sogar geringer, der methodische Fehler demnach sehr klein.

Ein praktischer Unterschied besteht auch nicht zwischen den 3 verwendeten Chargen verschiedenen Herstellungsdatums.

Alter der Charge [Monate]	A			B			C
	50	80	100	50	80	100	
1	8.9	10.4	9.8	9.5	10.7	9.4	17.5 18.0 21.7
2	9.0	10.0	9.4	9.0	12.0	10.0	19.5 20.1 20.3
3	7.7	9.4		9.1	10.0		17.2 19.5
4	10.9	10.6		10.5	10.3		25.2 20.3
5	12.4			12.0			25.1
6	10.1			10.8			22.6
7	10.9			11.4			23.8
ASK-Titer	10 E			30 E			

Tab. 30: Vergleich der Chargen 50, 80, 100 (Kv); Frischplasmen A, B, C.
Lysedifferenz (%) zwischen Aktivierung mit 10 E und 100 E SK
umgerechnet in Relativprozent (%). - Lyse (°) bei Aktivierung
mit 100 E SK im 1. Testmonat = 100 %r. (Vergleiche Abb. 25)

Abbildung 26 (Seite 92) mit Tabelle 31:

Vergleich der Lysedifferenzen (Lysedifferenz = Lyse nach Aktivierung mit 100 E SK minus Lyse nach Aktivierung mit 10 E SK) in Relativprozent (%r) des Ausgangswertes der Gefrierplasmen a und b (ASK-Titer=10 E) und c und m (ASK-Titer=30 E).

Der Unterschied der Lysedifferenzen der Gefrierplasmenpaare c und m, a und b, wird dargestellt als schwarze Fläche (gemessen mit Ch 50), als schraffierte Fläche (Ch 80), und als punktierte Fläche (Ch 100). Jede Fläche wird begrenzt von der Lysedifferenz des Plasmas c (bzw. a) und der Lysedifferenz des Plasmas m (bzw. b).

Man erkennt, daß die Lysedifferenz (zwischen Aktivierung mit 100 E SK und 10 E SK) in Relativprozent des Ausgangswertes (%r)

1. vom ASK-Titer des Plasmas abhängt
2. vom Alter des Gefrierplasmas beeinflusst wird
3. bei Plasmen gleichen ASK-Titers innerhalb einer Charge nur gering variiert
4. bei 3 Chargen verschiedenen Herstellungsdatums fast gleiche Werte zeigt.

Die Lysedifferenz beträgt bei Gefrierplasma a und b (ASK-Titer = 10 E) in allen Chargen ca. $9\% \pm 2$ bis etwa zum Gefrierplasmenalter von 5 Monaten (vergleiche Tab. 14', Seite 70); von da an nimmt die Lysedifferenz ab auf etwa 5 %r (Tab.31). Sie beträgt bei Gefrierplasma c und m (ASK-Titer=30 E) in allen Chargen ca. $16\% \pm 3$ bis etwa zum Gefrierplasmenalter von 5 Monaten; von da an geht die Lysedifferenz auf 11%r zurück (Tab.31).

Die beiden 21 %r -Werte bei Ch 50 (SFP-Alter= 4 und 5 Monate) des Plasmas c dürften zu hoch liegen.

Der Unterschied der Lysedifferenz zweier Gefrierplasmen gleichen ASK-Titers (a,b =10 E; c,m =30 E) beträgt bei Ch 50 beispielsweise nur 1%.

LYSE-Differenz [%r]
nach SK-Aktiv. (100E-10E)

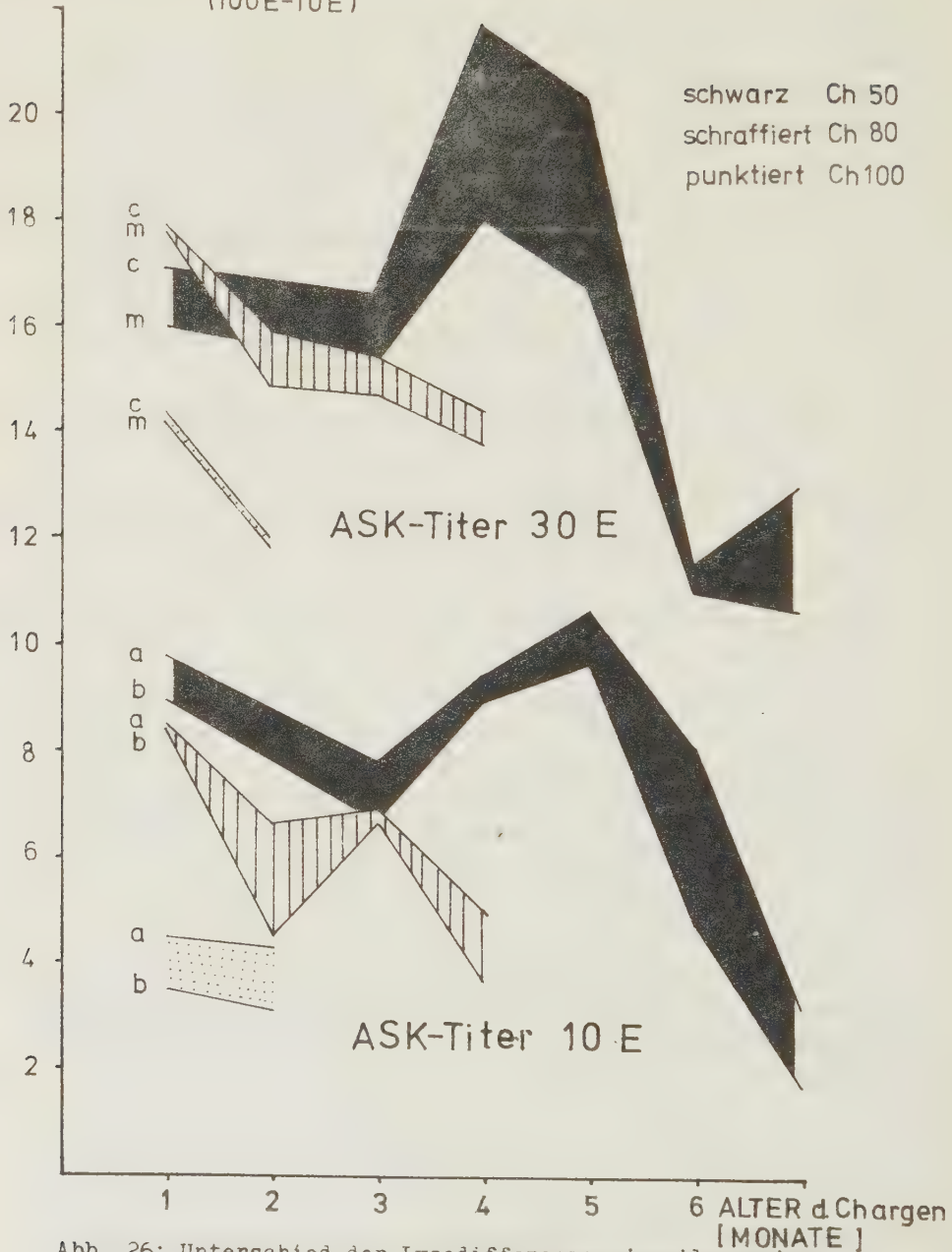


Abb. 26: Unterschied der Lysedifferenzen jeweils zweier Gefrierplasmen gleichen ASK-Titers (a,b: c,m)- Tab.31.

Alter der Charge [Monate]	a			b			c			m	Plasmen- alter [Monate] 50 Ch 80
	50	80	100	50	80	100	50	80	100		
1	8.9	8.5	3.5	9.8	8.5	4.5	16.0	17.8	14.2	17.1	0
2	-	4.3	3.1	-	6.6	4.5	-	15.9	12.0	17.2	1
3	6.7	6.6		7.8	6.8		15.3	15.4		16.6	2
4	8.9	5.0		9.4	3.7		21.7	13.8		18.0	3
5	10.6			9.6			20.3			16.7	4
6	4.7			8.0			11.5			11.0	5
7	1.7			3.2			10.6			13.0	6
ASK-Titer	10 E			30 E							

Tab. 31: Vergleich der Chargen 50, 80, 100 (kv); Gefrierplasmen a, b, c, m.
Lysedifferenz (%) nach Aktivierung mit 10 E und 100 E SK umgerechnet
in Relativprozent (%r). - Lyse (%) bei Aktivierung mit 100 E SK im
1. Testmonat = 100 %r. Beobachtungszeit 7 Monate. (Vergl. Abb. 26)

Abbildung 27 (Seite 95) mit Tabelle 31:(Seite 93):

Vergleich der mittleren Lysedifferenzen (Lysedifferenz = Lyse nach Aktivierung mit 100 E SK minus Lyse nach Aktivierung mit 10 E SK) aus je zwei Gefrierplasmen (a,b und c,m) bei Messung mit den Chargen 50, 80, 100, (ASK-Titer: a,b =10 E; c,m =30 E).

Man erkennt, daß die Lysedifferenz in Relativprozent des Ausgangswertes (%r) vom Alter und dem ASK-Titer des Gefrierplasmas abhängt.

Die Lysedifferenz zwischen Aktivierung mit 100 E SK und 10 E SK liegt bei Gefrierplasmen mit ASK-Titer =10 E bei 8-10 %r bis zum Alter der Charge 50 von 6 Monaten und dem Alter des Gefrierplasmas von 5 Monaten , bei Gefrierplasmen mit ASK-Titer =30 E bei 17-20 %r bis zum Alter der Charge 50 von 6 Monaten. Dann erfolgt eine starke Abnahme der Lysedifferenz, was auf Alterung des Plasmas zurückgehen dürfte.

Die Lysedifferenz -Werte (%r) liegen bei Ch 100 wesentlich tiefer als bei Ch 50 und 80, weil beim SFP-Alter der Ch 100 von 1 und 2 Monaten das Gefrierplasma bereits 5 und 6 Monate alt ist (vergleiche Tab.14',Seite 70).

Abbildung 28 (Seite 96) mit Tabelle 30 und 31 (Seite 89,93):

Vergleich der Lysedifferenzen (Lysedifferenz = Lyse nach Aktivierung mit 100 E SK minus Lyse nach Aktivierung mit 10 E SK) in Relativprozent des Ausgangswertes von Frisch- und Gefrierplasmen.

Bei Gefrierplasma a und c nimmt die Lysedifferenz (%r) bei Ch 50 ab dem SFP-Alter von 6 Monaten und dem Gefrierplasmenalter von 5 Monaten an ab im Vergleich zu Frischplasma A und C, deren Lysedifferenz innerhalb der Schwankungsbreite konstant bleibt. Die Abnahme der Lysedifferenz bei Gefrierplasma a und c gegenüber Frischplasma A und C zeigt ebenfalls deutlich Ch 80.

LYSE-Differenz [% r]

nach SK-Aktiv. (100 E - 10 E)

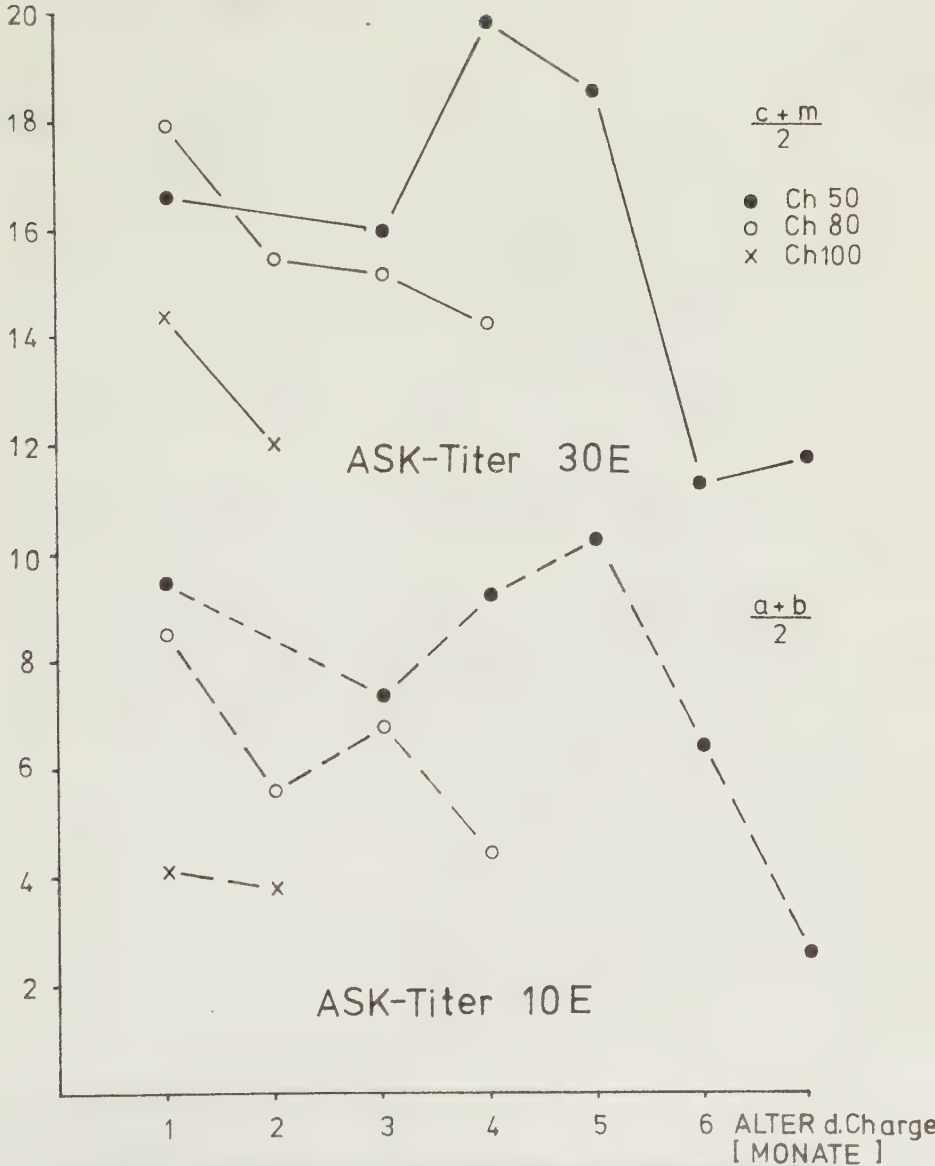


Abb. 27 : Vergleich der mittleren Lysedifferenzen zweier Gefrierplasmapaare verschiedenen ASK-Titers -Tab.31.

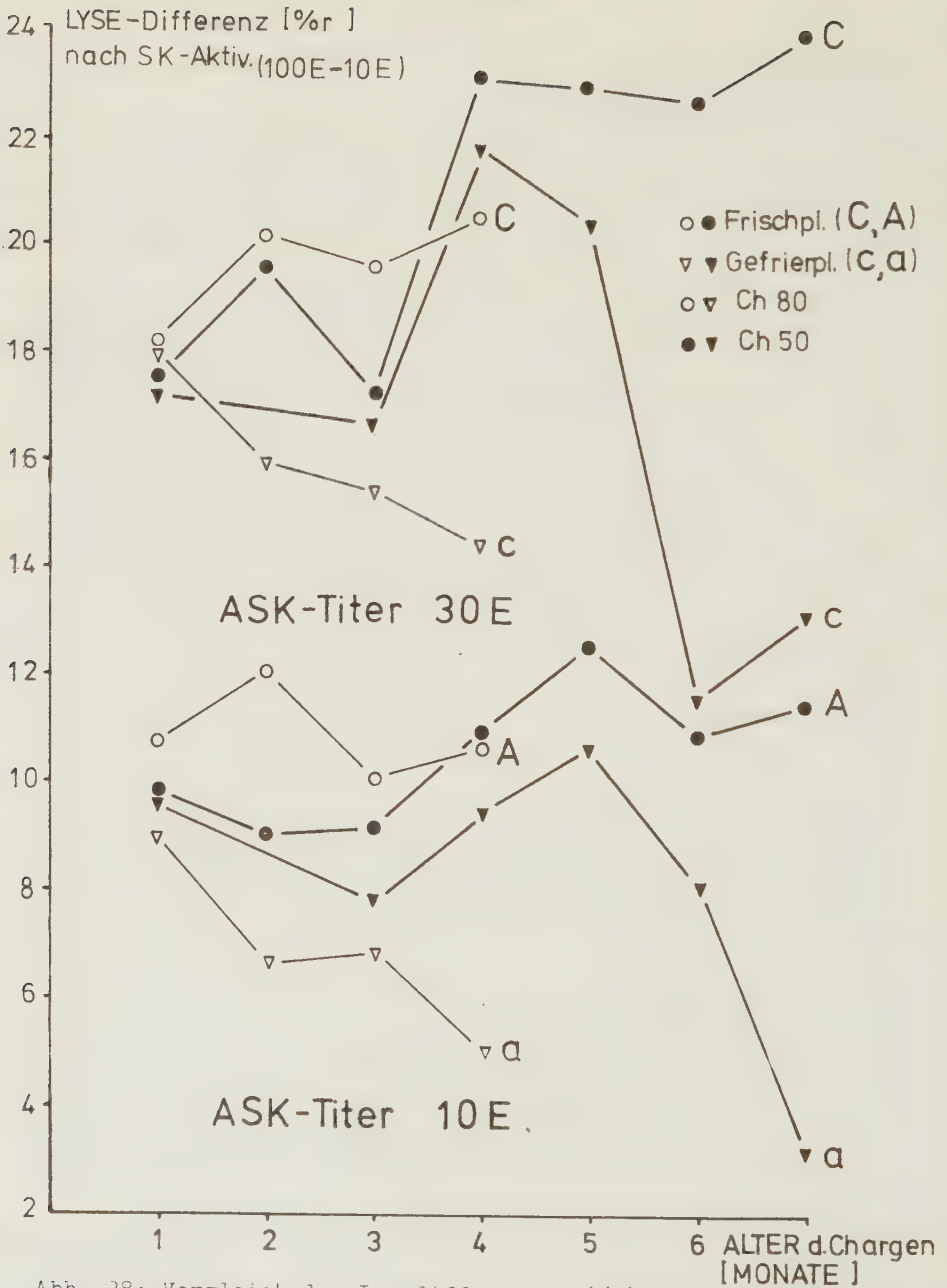


Abb. 28: Vergleich der Lysedifferenzen (%r) von Frischplasmen (A,C) und Gefrierplasmen (a,c) verschiedenen ASK-Titers (A,a = 10 E; C,c = 30 E).

bb. Vergleich der Lyse bei drei Chargen, (Zo und Zv) nach Aktivierung mit 10 E und 100 E SK, umgerechnet in Relativprozent des Ausgangswertes (%r) (Tab. 32-37)

Lyse der Frischplasmen A,B,C siehe Tabelle 32 und 33,
Lyse Differenz zwischen Aktivierung mit 100 E und 10 E SK siehe Tabelle 34.

Lyse und Lyse Differenz von Frischplasmen, gemessen mit SFP, das bei Zimmertemperatur offen und verschlossen (Zo, Zv) aufbewahrt wurde, verhalten sich genauso wie die, welche mit SFP, das bei Kühlschranktemperatur (Kv) verschlossen aufbewahrt wurde, gemessen werden. - bis auf das etwas schnellere Absinken der Werte infolge Papieralterung durch äußere Einflüsse (Temperatur, Feuchtigkeit).

Lyse der Gefrierplasmen a,b,c,m siehe Tabelle 35 und 36,
Lyse Differenz zwischen Aktivierung mit 100 E und 10 E SK siehe Tabelle 37.

Für Gefrierplasmen gilt das Gleiche wie für Frischplasmen; jedoch sinken die Werte noch schneller als bei Frischplasmen, da die Alterung des Gefrierplasmas etwa 5-6 Monate nach dem Einfrieren sich bemerkbar macht.

Alter der Chargen [Monate]	A			B			C			SFP
	50	80	100	50	80	100	50	80	100	
1		84.7			80.3			72.5		Zv
2	72.3	72.4	73.6	69.5	71.1	71.0	67.0	59.4	59.5	
3	68.0	63.0		68.0	62.2		53.6	47.8		
4	54.3	49.2		52.6	46.4		31.3	31.5		
5	44.0			35.9			22.4			
1		66.5			67.8			59.1		Zo
2	56.7	53.3	57.0	59.0	53.3	57.8	43.6	46.7	47.6	
3	48.0	45.1		43.9	40.7		36.0	37.1		
4	22.3	25.0		22.2	26.8		16.7	18.8		
5	12.7			19.7			4.2			

Tab. 32: Vergleich der Ch 50, 80, 100 (Zo, Zv). Frischplasmen A B C aktiviert
mit 10 E SK über 5 Monate. Umrechnung der Lyse % (Aktiv. mit 100 E SK
mit 1 Monat altem SFP = 100 %) in Relativprozent (%).

Alter der Chargen [Monate]	A			B			C			SPP
	50	80	100	50	80	100	50	80	100	
1		92.3			92.0			90.5		
2	83.3	80.9	82.5	81.7	79.5	80.2	1.5	78.9	81.5	Zv
3	75.4	74.0		75.4	73.5		1.8	69.9		
4	60.6	59.2		59.7	55.7		3.4	52.6		
5	51.5			46.2			5.8			
1		78.8			76.1			80.9		
2	68.6	65.6	68.8	67.6	64.6	68.2	6.0	63.9	65.6	Zc
3	59.9	57.1		57.0	52.1		8.1	54.3		
4	33.0	37.3		30.4	38.6		32.9	34.1		
5	20.9			25.1			21.8			

Tab. 33: Vergleich der Ch 50, 80, 100 (Zo, Zv). Frischplasmen A, B, C aktiviert mit 100 E SK. Beobachtungsdauer 5 Monate. Umrechnung der Lyse % (aktiviert mit 100 E SK: höchste Lyse % = 100 %) in Relativprozent (%r).

Alter der Charge [Monate]	A			B			C		
	50	80	100	50	80	100	50	80	100
1		7.6			11.7		18.0		
2	11.0	8.5	8.9	12.2	8.4	9.2	18.5	19.5	22.0
3	7.4	11.0		7.4	11.3		18.2	21.9	
4	6.3	10.0		7.1	9.3		22.1	21.1	
5	7.5			10.3			23.4		
									Zv
1		12.3			8.3		21.1		
2	11.9	12.4	11.8	8.6	11.3	10.4	16.4	17.2	18.0
3	11.0	12.0		13.1	11.4		22.1	17.2	
4	10.7	11.4		8.2	11.8		16.2	15.3	
5	8.2			6.0			17.6		
									Zo

Tab. 34: Vergleich der Chargen 50, 80, 100 (Zv, Zo); Frischplasmen A, B, C.
 Lysedifferenz (%) nach Aktivierung mit 10 E und 100 E SK umgerechnet
 in Relativprozent (%r). - Lyse (%) bei Aktivierung mit 100 E SK im
 1. Testmonat = 100 %r. Beobachtungszeit 5 Monate.

Alter der Ch [Monate]	a			b			c			m			SFP	
	50	80	100	50	80	100	50	80	100	50	80	100		
1	91.1	80.8		90.2	78.8		84.0	71.4		82.9	68.3		Zv	
2		67.5	64.7		68.4	63.6		58.9	56.0		56.8	55.1		57.7
3	56.3	54.8		52.2	54.9		46.9	41.8		46.6	41.8			
4	41.5	41.4		39.9	39.5		28.7	20.1		26.9	21.5			
5	30.8			28.4			19.4			17.9				
1	91.1	68.8		90.2	67.6		84.0	59.2		82.9	56.5		Zo	
2		56.6	55.2		55.0	50.5		45.0	41.1		39.7	39.6		40.5
3	45.6	38.8		42.3	38.5		5.2	19.0		32.8	16.5			
4	16.9	18.3		17.6	15.9		2.6	6.2		9.0	12.7			
5	8.2			10.6										

Tab. 35: Vergleich der Chargen 50, 80, 100 (Zv, Zo); Gefrierplasmen a, b, c, m aktiviert mit 10 E SK. Lyse (%) umgerechnet in Relativprozent (%r).
Lyse (%) bei Aktivierung mit 100 E SK im 1. Testmonat = 100 %r.
Beobachtungszeit 5 Monate.

Alter der Ch [Monate]	a			b			c			m			SFP
	50	80	100	50	80	100	50	80	100	50	80	100	
1	100.0	87.8		100.0	87.4		100.0	87.2		100.0	86.1		
2		75.0	70.3		75.0	67.2		74.1	67.4	73.6	68.4	69.8	Zv
3	63.6	60.5		62.9	59.9		63.0	55.2		60.1	57.2		
4	49.6	46.7		47.3	44.4		47.7	32.4		48.5	35.2		
5	39.9			37.4			31.7			36.3			
1	100.0	76.2		100.0	74.3		100.0	75.1		100.0	71.6		
2		62.9	60.0		60.4	55.3		56.7	54.0	58.9	53.9	50.2	Zo
3	53.8	45.0		52.1	44.7		46.4	28.6		47.7	31.0		
4	23.0	23.0		20.8	19.0		18.6	16.1		19.2	22.2		
5	13.6			19.7			11.1			9.0			

Tab. 36: Vergleich der Chargen 50, 80, 100 (Zv, Zo). Gefrierplasmen a, b, c, m, aktiviert mit 100 E SK. Lyse (%) umgerechnet in Relativprozent (%r).
Lyse (%) bei Aktivierung mit 100 E SK im 1. Testmonat = 100 %r.

Alter der Charge [Monate]	a			b			c			m			SFP
	50	80	100	50	80	100	50	80	100	50	80	100	
1	8.9	7.0		9.8	8.6		16.0	15.8		17.1	17.8		Zv
2		7.5	5.4		6.6	3.6		15.6	11.4		15.8	13.3	12.1
3	7.3	5.7		10.7	5.0		16.1	13.4			13.5	15.4	
4	8.1	5.3		7.4	4.9		19.0	12.3			21.6	13.7	
5	9.1			1.0			12.3				18.4		
1	8.9	7.6		9.8	6.7		16.0	15.9		17.1	15.1		Zo
2		6.3	4.8		5.4	4.8		11.7	12.9		19.2	14.3	10.3
3	8.2	6.2		9.8	6.2		20.0	9.0			14.9	14.5	
4	6.1	4.7		3.2	4.1		13.4	9.9			10.2	9.5	
5	5.4			9.1			8.5				7.7		

Tab. 37: Vergleich der Chargen 50, 80, 100 (Zv, Zo). Gefrierplasmen a, b, c, m. Lysedifferenz () zwischen Aktivierung mit 10 E und 100 E SK umgerechnet in Relativprozent. (Er). Lyse (b) bei Aktivierung mit 100 E SK im 1. Testmonat = 100 %r. Beobachtungszeit 5 Monate.

E. Versuche zur Methode (Ch 50, 80, 100)

a. Randstreifentest

Es wurden 100 Randstreifen (Kv) bei 3 Chargen mit den übrigen SFP-Streifen (Kv, jeweils aus dem gleichen mit Plastik verschlossenen Päckchen, gleicher Ansatz, gleiches Plasma) getestet. Verglichen wird die Lyse (%) nach Aktivierung mit 10 E SK. Es ergab sich in etwa 60 % genau die gleiche Lyse bei Randstreifen und übrigen Streifen, in etwa 40 % zeigten sich erhebliche Lyseunterschiede, die 20 bis 100 % von den übrigen SFP-Streifen abwichen. Es empfiehlt sich, Randstreifen nicht zum Test (vor allem nicht bei einem Ansatz mit nur einem SFP-Streifen) zu verwenden.

b. Test mit Elphorentfärber bei verschiedenen Temperaturen

Die Entfärbung der Streifen erfolgt normalerweise mit Elphorentfärber, der Zimmertemperatur (+ 20°C) hat. Wir füllten den Elphorentfärber in 37°C warme Glasschalen. Die Streifen wurden nun stärker entfärbt, wobei jedoch die Entfärbezeit insgesamt (bis Elphor 0.050 Extinktion zeigt) nicht verkürzt wurde. Die Extinktionen Norm E, Lyse E, Papier E zeigen niedrigere Werte bei 37°C als bei 20°C (Elphortemperatur) Entfärbung und sind nicht zum Vergleich mit Werten von SFP, das bei 20°C entfärbt wurde geeignet. Ein weiterer Nachteil der Entfärbung bei höherer Temperatur ist die starke Entwicklung von HCl-Dämpfen, die eventuell durch Entfärbung in einem geschlossenen System wegfallen.

c. Entfärbezeit mit Elphorentfärber bei verschiedener SFP-Streifenzahl je Glasschale

1. Bei 10 Streifen (1 Leerwert, 3 Norm E-Werte, 6 Lyse E-Werte) je Glasschale wurde durchschnittlich 15 Minuten geschüttelt (Elphor, jeweils 200 ml, alle 5 Minuten gewechselt), dann 3 bis 3.5 Stunden stehen gelassen (wobei etwa alle

30 Minuten etwas geschüttelt und dann der Elphor gewechselt wurde), dann 3-3.5 Stunden geschüttelt (Elphorwechsel alle 15 Minuten).

2. Bei 10 Streifen (analog 1.) je Glasschale wurde durchschnittlich 15 min geschüttelt (Elphorwechsel alle 5 min), dann ca. 4 St. geschüttelt (Elphorwechsel alle 15 min).

3. Bei 5 Streifen (1 Leerwert, im Übrigen: Norm E und Lyse E Werte) je Glasschale wurde 15 min geschüttelt (Elphorwechsel alle 5 min), dann 2 St. stehen gelassen (wobei alle 30 min etwas geschüttelt und dann der Elphor gewechselt wurde), dann 2-2.5 St. geschüttelt (Elphorwechsel alle 15 min).

4. Bei 5 Streifen (analog 3.) je Glasschale wurde 15 min geschüttelt (Elphorwechsel alle 5 min), dann ca. 3 St. geschüttelt (Elphorwechsel alle 15 min).

5. Mehr als 10 Streifen je Glasschale sind nicht empfehlenswert, da dann die Entfärbezeit sehr stark ansteigt.

d. Meßgenauigkeit

Als Maß für die Meßgenauigkeit soll der Variationskoeffizient dienen

$$V = \frac{s}{\bar{x}} ;$$

Der Variationskoeffizient (in Prozenten) lautet :

$$V = \frac{s}{\bar{x}} \times 100 (\%);$$

Bei Ch 50, Papier E, n = 35, V = 2.21 %

Ch 50, Norm E , n = 25, V = 2.30 %

Ch 80, Papier E, n = 20, V = 2.22 %

Ch 80, Norm E , n = 20, V = 2.28 %.

V liegt also unter dem mindestens geforderten Wert von 2.5 % (Ausführliche Statistik : siehe Tab. 9-13).

4. Diskussion

=====

A. Frischplasma

- a. Eine deutliche Steigerung der fibrinolytischen Aktivität des Frischplasmas finden wir zwischen der Aktivierung mit 10 E Streptokinase (SK) und mit 100 E SK.
Beim Vergleich der Mittelwerte der Lyse E (aus je 5 Einzelwerten) nach Aktivierung eines Plasmas mit 10 E SK und mit 100 E SK zeigt der t-Test (bei einem ASK-Titer von 10 E) einen signifikanten Unterschied mit der Irrtumswahrscheinlichkeit ($P < 0.01$ bei 8 Freiheitsgraden (fg), bzw. (bei einem ASK-Titer von 30 E) mit $P < 0.001$ (fg=8). Lyse E nach Aktivierung mit 100 E SK ist also signifikant höher als nach Aktivierung mit 10 E SK, was eine Differenz von 7 - 9 % (ASK-Titer=10 E) bzw. 13 - 17% (ASK-Titer=30 E) bedeutet.
Unsere Lysedifferenz-Werte liegen jedoch (bei vergleichbaren ASK-Titern) niedriger als die von Schorer (89).
- b. Die Frischplasmen gesunder männlicher Probanden (Alter 20-26 Jahre) gleichen ASK-Titers zeigten ähnliche Lyse-Werte nach Aktivierung mit 10 E SK und mit 100 E SK. Die Lyseunterschiede zwischen den Plasmen, maximal 10 %r, meist 3- 5 %r (%r = Lyse in Relativprozent des Ausgangswertes), waren auf den Meßfehler zurückzuführen.
Schorer (89) fand in ihrer Arbeit einen Methodenfehler von ± 6.3 %. Wir zogen in unseren statistischen Berechnungen den Variationskoeffizienten (V) vor. Bei 20 Einzelwerten beträgt $V = 2.22$ %. Die Methode ist also gut reproduzierbar.
- c. Ein Vergleich gleichalten SFP's dreier Chargen bezüglich der Lysedifferenz zwischen Aktivierung eines Plasmas mit

10 E SK und mit 100 E SK nach Umrechnung in Relativprozent des Ausgangswertes (%r) zeigt, daß die Chargenunterschiede relativ kleinen Schwankungen unterworfen sind, die maximal 6 %r betragen (Abb. 25,28) und damit im Bereich der Meßgenauigkeit der Methode liegen.

Bei Gefrierplasmen (-30°C) nimmt die Lysedifferenz zwischen Aktivierung mit 100 E SK und 10 E SK etwa vom 5. Monat nach Einfrieren des Plasmas deutlich ab, und es ist z.T. im 6. Monat mit 100 E SK keine signifikante Steigerung der Lyse gegenüber Aktivierung mit 10 E SK mehr zu erreichen.

Entweder macht sich von diesem Zeitpunkt an eine Verringerung des Proaktivators bzw. des Plasminogens bemerkbar oder es treten Eiweißabbauprodukte als Hemmstoffe auf, die nicht im Streptokinaseresistenztest erfaßt werden können.

- d. Zwischen Mischplasma (von 10 Personen, Alter 20-24 Jahre) und Einzelplasma gleichen ASK-Titers konnten wir keinen Unterschied feststellen hinsichtlich der Lyse (bei einer Beobachtungsdauer von 7 Monaten).
- e. Einige Meßwerte wurden durch äußere Einwirkungen beeinflusst:

Eine Steigerung der Lyse am Morgen (21) und eine Verringerung durch massive Zufuhr von Nahrungsstoffen (Eier, Milch, Bier, Wein (21,33,53,66,77)) konnten wir bestätigen, ebenfalls eine Steigerung der Lyse nach körperlicher Arbeit und Streß (5,20,33,78,102,103,105). Eine Steigerung der Lyse durch Fieber (23,31,32,68,107) konnten wir nicht bestätigen, da wir -allerdings nur in einem Einzelfall (39°C Fieber, 2.Tag) - eine deutlich erniedrigte Lyse vorfanden.

Für die von einigen Autoren vertretene Ansicht, daß

venöse Okklusion (Stauung 10 min) eine Steigerung der Lyse verursacht (7, 102), fanden wir keine Anhaltspunkte (5 Norm- Versuchspersonen). Um über diese äußeren Einwirkungen statistisch eindeutige Aussagen machen zu können, reichte unser Beobachtungsgut nicht aus.

B. Gefrierplasma

Wir untersuchten die Streptokinase-aktivierbare Lyse eines Citratplasmas, das bei -30°C eingefroren wurde.

Dieses Plasma behielt seine Lyse über 4 - 5 Monate (Abb. 17, 18), jedoch lagen die Lysewerte etwas niedriger als die des jeweils am Testtag entnommenen Frischplasmas der gleichen Person.

Zu ähnlichen Ergebnissen kamen - allerdings mit Citratolul - andere Autoren:

Nach Meneghini (68) behält Citratblut (Blut wurde Spendern entnommen, bei denen durch i.v. Injektion von 0.35 g Pyrexal-Wander^R ein Fieberschock und dadurch eine starke Fibrinolyse erzeugt worden war) seine Lyse bei Aufbewahrung bei -28°C (Tiefkühltruhe) 3 Monate lang.

Nach Sherry und Alkjaersig (95) verschwindet beim Aufbewahren citrierter fibrinolytisch aktiver Blutproben die Lysefähigkeit bei -28°C erst nach einigen Monaten; die Abnahme der Lysefähigkeit soll z.T. auf eine Antifibrinolysin-Wirkung, z.T. auf Spontaninaktivierung zurückgehen.

Bei eingefrorenem und wieder aufgetautem Citratblut muß in Betracht gezogen werden, daß die Zytolyse von Erythrozyten und anderen korpuskulären Bestandteilen des Blutes die Lyse beeinflusst. Nach Eichenberger et al. (32) geben Leukozyten, wahrscheinlich auch Erythrozyten, Kinasen ab, die die im Blut vorhandene Profibrinolysokinase in plasmatische Fibrinolysokinase überführen.

In unseren Versuchen hielt sich die Lyse von Citratplasma ca. 5 - 6 Monate.

Mit unserem Versuchsansatz wird die gesamte Streptokinase-aktivierbare Lyse des Plasmas erfaßt.

Über die Aktivitätsminderung einzelner Faktoren des fibrinolytischen Systems in bestimmten Zeiträumen liegen verschiedene Arbeiten vor. Speziell mit 2 Faktoren des fibrinolytischen Systems befaßten sich Autoren in jüngerer Zeit:

Spöttl (101) untersuchte den Einfluß der Lagerung von Plasma auf den proaktivatorgehalt des fibrinolytischen Systems: Bei Lagerung des Plasmas bei -25°C kann über einen Zeitraum von 4 Monaten kein signifikanter Aktivitätsverlust nachgewiesen werden.

Nach Loomis (62) verliert Profibrinolysin- (Plasminogen) Globulin, ähnlich wie Fibrinolysin (Plasmin) bei -40°C schon in einigen Wochen seine Aktivität.

Da wir aus unseren Ergebnissen schließen, daß mit 100 E SK eine fast vollständige Aktivierung des Proaktivators erreicht wird, könnte unter Bezugnahme auf die Arbeit von Loomis (62) die etwa 2 Monate nach dem Einfrieren von uns ermittelte etwas niedrigere Lyse des Plasmas lediglich durch eine beginnende Abnahme der Plasminogen-Aktivität bedingt sein. Allerdings ist die von uns gefundene Lyseminderung nicht signifikant.

Daß diese Abnahme der Plasminogen-Aktivität nach 2 Monaten bei unseren Testen nicht sehr deutlich in Erscheinung tritt, beruht unter Umständen auf einer Abnahme der Aktivität der Antiplasmine, deren Aktivität in vitro bei -7°C nur 1 - 2 Monate lang erhalten bleiben soll (103).

Der signifikante Abfall der Lyse unserer Gefrierplasmen nach 5 Monaten Lagerung (-30°C) konnte unter anderem durch einen aus zytolysierten Thrombozyten freigewordenen Fibrinolyseinhibitor mit einer ausgesprochenen Antiaktivatoreigenschaft bedingt sein:

Dafür spricht der Befund von Jürgens (50), daß durch 3 maliges Einfrieren und Wiederauftauen zytolysierte Thrombozyten ihre Plättchen-Antiplasminaktivität verlieren und statt dessen einen Fibrinolyseinhibitor mit ausgesprochenem Antiaktivatorcharakter freisetzen.

C. Auswirkung des Antistreptokinase (ASK)-Titers auf die Lyse

Christensen (23) stellte Antikörper gegen Streptokinase (SK) nach Streptokokkeninfektion fest. Bei höherem ASK-Titer sind auch höhere SK-Mengen nötig (Zönnchen (116)), um eine bestimmte Lyse zu erhalten, da erst die Antikörper mit SK abgesättigt werden müssen, bevor eine vollständige Aktivierung des lytischen Systems möglich ist. Es ist also unumgänglich, vor jedem Lyse-test eines SK-aktivierten Plasmas den ASK-Titer zu bestimmen, vor allem bei Aktivierung mit 10 E SK (bis 100 E).

Hier zeigen sich nämlich die größten Unterschiede zwischen Plasmen mit ASK-Titer=10 E und solchen mit ASK-Titer=30 E. Bei Aktivierung mit 100 E SK ist die Lysedifferenz der beiden Plasmen wesentlich geringer. Wir konnten in 5 Vorversuchen bei Aktivierung mit 300 E SK und mit 500 E SK keine wesentliche Lysesteigerung feststellen. Es scheint also eine fast maximale Lyse nach Aktivierung mit 100 E SK erreicht zu sein. Unsere Werte beziehen sich allerdings nur auf Plasmen mit ASK-Titer 10-30 E.

Schorer (89) fand eine Relation zwischen ASK-Titer und lytischer Aktivität nach SK-Aktivierung. Wir konnten dies bestätigen.

Der ASK-Titer des Gefrierplasmas ändert sich entsprechend unseren Ergebnissen nicht über 5 Monate. Man kann also das Plasma einer Person 4 Monate bei -30°C aufbewahren und es zu Vergleichstesten mit Frischplasma heranziehen, da über diesen Zeitraum eine konstante Lyse fast gleich der des Frischplasmas zu erzielen ist.

5. Zusammenfassung

=====

1. Streptokinaseaktiviertes Frischplasma (nicht älter als 2 Stunden) derselben Person zeigt, gemessen mit Standardfibrin-papier (SFP) einer Charge (SFP aufbewahrt bei Kühlschrank-temperatur (+ 4°C) verschlossen in den Plastikhüllen), mindestens 4 Monate lang nach Herstellung der Charge konstante Lyse-Werte.
2. Die Verminderung der Lysequote (in %), die sich am Strepto-kinaseaktivierten Frischplasma derselben Person bei Messung mit 5 Monate altem SFP - im Vergleich zu SFP direkt nach Her-stellung - zeigt, beruht auf einer Alterung des SFP.
3. Frisch eingefrorenes Citratplasma (-30°C) zeigt nach 5 Monaten (aktiviert mit Streptokinase) beim Vergleich mit Frischplasma (aktiviert mit Streptokinase) derselben Person keinen sig-nifikanten Unterschied bezüglich seiner Lysequote.
4. Mischplasma von 10 Personen behält ebenso wie Einzelplasma bei Aufbewahrung bei -30°C eine gleichbleibende fibrinoly-tische Aktivität.
5. Die Lysequote (Lyse %, gemessen mit SFP) eines Plasmas nach Aktivierung mit 10 E und 100 E Streptokinase in vitro, ist abhängig vom Antistreptokinasegehalt des Plasmas:
Ein Antistreptokinasegehalt von 30 E bedeutet bei Aktivie-rung eines Frischplasmas
mit 100 E Streptokinase eine um ca. 10 %,
mit 10 E Streptokinase eine um ca. 20 % niedrigere Lyse als
bei einem Frischplasma mit einem Antistreptokinasegehalt
von 10 E.
6. Bei - 30°C frisch eingefrorenes Citratplasma zeigt über 6 Monate, bei monatlich einem Streptokinase-Resistenztest keine Veränderung des Antistreptokinase-Titers.

7. Gleich altes Standardfibrinpapier verschiedener Chargen ergibt mit demselben Frischplasma (nach Umrechnung der Lyse in Relativprozent des Ausgangswertes - vergl. Seite 83) gleiche Werte. Die Standardpapierfibrinolyse- Methode ist somit sehr gut reproduzierbar (vergl. Seite 112).
8. Die Lysedifferenz zwischen Aktivierung mit 10 E und 100 E Streptokinase beträgt bei Frischplasmen mit Antistreptokinase-Titer = 10 E etwa 10 %, bei Frischplasmen mit Antistreptokinase-Titer = 30 E etwa 20 %.
9. Standardfibrinpapier (SFP) kann maximal 2 Wochen bei Zimmertemperatur (+ 20°C) in den Plastikhüllen verschlossen, nicht länger als einen Tag bei Zimmertemperatur (+ 20°C) unverschlossen aufbewahrt werden, wenn noch gute Meßwerte erzielt werden sollen.
10. Der Zeitaufwand der Elphorentfärbung beträgt bei 10 Streifen ca. 4 Stunden, bei 5 Streifen ca. 3 Stunden.
11. Elphorentfärber darf nicht über Zimmertemperatur (+ 20°C) erwärmt werden.
12. Der Variationskoeffizient (V) als Maß für die Meßmethodengenauigkeit beträgt:
für Norm E (Extinktion des in nicht aktiviertem Testplasma inkubierten Standardfibrinpapiers = 0 % Lyse) bei $n = 20$:
$$V = 2.28 \%$$

für Papier E (Extinktion des Chromatographiepapiers ohne Fibrin = 100 % Lyse = Leerwert), bei $n = 20$:
$$V = 2.22 \%$$

Er liegt damit unter dem für biologische Meßmethoden mindestens geforderten Wert von $V = 2.5 \%$.

Literaturverzeichnis

1. Albrechtsen, O.K.: The fibrinolytic activity of human tissues. J. Brit. Haemat. 3, 284, 1957
2. Albrechtsen, O.K.: Fibrinolytic activity in the organism. Acta physiol. scand. Vol. 47, Suppl. 165, 1959
3. Ambrus, J.L., Ambrus, C.M., Back, N., Sokal, J.E., Collins, G.L.: Clinical and experimental studies on the fibrinolytic enzymes. Ann. N. Y. Acad. Sci. 68, 97, 1957
4. Ambrus, T., Markus, G.: Plasmin-Antiplasmin complex as a reservoir of fibrinolytic enzymes. Amer. J. Physiol. 199, 491, 1966
5. Amery, A.: Einfluß von Chlorpropamid und Glukose auf die fibrinolytische Aktivität; in Zuckschwerdt, L., Thies, H. R.: Experimentelle und therapeutische Fibrinolyse. F. K. Schattauer Verlag, Stuttgart, 1963
6. Amery, A., Maes, H., Vermylen, J., Verstraete, M.: The streptocinase reactivity test. I. Standardisation. Thromb. Diath. haemorrh. 9, 175, 1963
7. Andersen, G.: Studien über Fibrinolyse unter besonderer Berücksichtigung der Stauung. Med. Diss., München, 1953
8. Astrup, T., Permin, P.M.: Fibrinolysis in the animal organism. Nature 159, 681, 1947
9. Astrup, T., Müllertz, St.: The fibrin plate method for estimating fibrinolytic activity. Arch. Biochem. 40, 346, 1952
10. Astrup, T.: Fibrinolysis in the organism. Blood 11, 781, 1956
11. Astrup, T., Sterndorf, J.: Fibrinolysokinase activity in the animal and human tissue. Acta physiol. scand. 37, 40, 1956

12. Astrup, T., Albrechtsen, O.K.: Estimation of the plasminogen activator and the trypsin inhibitor in animal and human tissues. *Scand. J. clin.Lab.Invest.* 9, 233, 1957
13. Astrup, T.: Activators and inhibitors of fibrinolysin. *Proc. 4th Int. Congr. Biochem.* X, 147, 1958
14. Astrup, T., Albrechtsen, O.K., Classen, M., Rasmussen, J.: Thromboplastic and fibrinolytic activity of the human aorta. *Circulation Res.* 7, 969, 1959
15. Astrup, T., Beller, F.K., Glas, P., Rasmussen, J.: Fibrinolytic activity of the human uterine tube. *Obstet. Gynec.*, N.Y. 25, 853, 1965
16. Astrup, T.: Biologie des Plasmins; in Künzer, W., Winkelmann, G., Walter, Ch.: *Biologie des Plasmins*, Purpura Schönlein-Henoch. F.K.Schattauer, Stuttgart 1967, p. 1
17. Barnhart, M.J.: Influence of fibrinolytic products on hepatic release and synthesis of fibrinogen; in Owren, P.A.: *Fibrinogen, structural, metabolic and pathophysiologic aspects*. F.K. Schattauer, New York 1970, pp. 143-159
18. Baumgarten, W., Cole, R.: Human plasminogen-streptokinase complex. The question of the existence of a separate activator entity. *Thromb. Diath. haemorrh.* 5, 601, 1961
19. Biggs, R., Mc Farlane, R.G., Pilling, J.: Observations on fibrinolysis. Experimental activity produced by exercise or adrenaline. *Lancet* 1, 402, 1947
20. Blombäck, B.: Fibrinogen: Structure and function; in Owren, P.A.: *Fibrinogen, structural, metabolic, and pathophysiologic aspects*. F.K.Schattauer, New York 1970, pp. 341-347
21. Buckell, M., Elliot, F.A.: Diurnal fluctuation of plasma fibrinolytic activity in normal males. *Lancet* 1, 660, 1959
22. Christensen, L.R.: Streptococcal fibrinolysis: a proteolytic reaction due to a serum enzyme activated by streptococcal fibrinolysin. *J. gen. Physiol.* 28, 363, 1945

23. Christensen, L.R.: Streptokinase and streptococcal desoxy-ribonuclease. J. clin. Invest. 28, 163, 1949
24. Christensen, L.R., Mac Carty, M.: The streptokinase plasminogen system: streptococcal infections. Columbia Univ. Press, New York 1954, pp. 39-41
25. Coccheri, S., Astrup, T.: Thromboplastic and fibrinolytic activities of large human vessels. Proc. Soc. exp. Biol., N.Y. 108, 369, 1961
26. Copley, A.L.: Effect capillorragique de la fibrinolysine. Arch. int. Pharmacodyn. 99, 426, 1954
27. Deutsch, E., Fischer, M.: The effect of intravenously administered streptokinase on fibrinolysis and blood coagulation. Thromb. Diath. haemorrh. 4, 183, 1960
28. Deutsch, E.: Fortschritte der fibrinolytischen Therapie. Blood, 7, 472, 1961
29. Deutsch, E.: Die endogene und exogene Auslösung der Fibrinolyse; in Hiemeyer, V.: Therapeutische und experimentelle Fibrinolyse. F.K. Schattauer, Stuttgart 1969, pp. 35-48
30. Documenta Geigy Wissenschaftliche Tabellen 6.Aufl., J.R. Geigy Basel, 1960, pp. 32-35
31. Egli, H.: Physiologische Grundlagen der Fibrinolyse; in Zuckschwerdt, L., Thies, H.A.: Experimentelle und therapeutische Fibrinolyse. F.K. Schattauer, Stuttgart 1963, pp. 6-8
32. Eichenberger, E., Schmidhauser-Kopp, M., Hurmi, H., Fricsay, M., Westphal, O.: Biologische Wirkungen eines hochgereinigten Pyrogens aus Salmonella abortus equi. Schweiz. med. Wschr. 85, 1190, 1955
33. Fearnley, G.R., Ferguson, L., Charrabati, R., Vincent, C.T.: Effect of beer on blood fibrinolytic activity. Lancet 1, 184, 1960
34. Fearnley, G.R.: Fibrinolysis. Edward Arnold Publishers LTD, London 1965, pp. 14-16

35. Fischbacher, W.: Erfahrungen mit der therapeutischen Fibrinolyse durch Streptokinase. Schweiz. med. Wschr. 44, 1241, 1960
36. Fischbacher, W.: Beitrag zur fibrinolytischen Therapie mit Streptokinase und Fibrinolysin. Thromb. Diath. haemorrh. 6, 547, 1961
37. Fleisher, M.S., Loeb, L.: On tissue fibrinolysin. J. biol. Chem. 21. 477, 1915
38. Franke, H.: Manuskript und Vortrag. G.Thieme, Stuttgart 1969, pp. 93-129
39. Goossens, N., Gastpar, H.: Antikoagulantienfibel - Blutgerinnung und Praxis der Antikoagulantientherapie. J.Lehmanns, München 1957, pp. 16-32
40. Goossens, N., Walcher, A.: Paper-Fibrinolysis - A new quantitative photometric fibrinolysis method. Proc. of the IX. Congr. of the Internat. Soc. of Haematol., Vol. II, 271, Mexico 1962, S.Karger 1963
41. Goossens, N., Walcher, A.: Spontaneous Paperfibrinolysis. XI. Congr. of the Internat. Soc. of Haematol., Sydney 1966
42. Goossens, N.: Über Fibrinolyseaktivierung in vitro und in vivo durch Nikotinsäure, Heparin und deren Mischungen. Med. Welt, 14, 899, 1967
43. Goossens, N.: Standardisierte Fibrinolysebestimmung. Med. Welt, 21, 1816, 1970
44. Gross, R.: Blutgerinnung und Fibrinolyse. Behringwerk-Mitt. 44, 1, 1964
45. Hedner, U., Nilsson, J.M.: Determination of plasminogen in clots and thrombi; in Hiemeyer, V.: Therapeutische und experimentelle Fibrinolyse. F.K. Schattauer, Stuttgart 1969, pp. 193

46. Heimburger, N.: Neuere Erkenntnisse über den Mechanismus der Fibrinolyse unter besonderer Berücksichtigung der Fibrin-agar-Elektrophorese. Behringwerk-Mitt. 41, 84, 1962
47. Hess, H., Goossens, N.: Thrombolytische Therapie bei akutem Ischämiesyndrom an den Gliedmaßen. Med. Klin. 30, 1208, 1965
48. Hess, H., Goossens, N.: Behandlung rezidivierender Embolien in Extremitätenarterien mit Streptokinase und Urokinase. Fortschr. Med. 84, 296, 1966
49. Jung, E.G., Duckert, F.: Wirkung von Plasmin (Fibrinolysin) auf die Gerinnungsfaktoren. Schweiz. Med. Wschr. 44, 1239, 1960
50. Jürgens, J.: Über die Rolle der Thrombozyten und Retraktion bei der Thrombolyse; in Hiemeyer, V.: Therapeutische und experimentelle Fibrinolyse. F.K. Schattauer Stuttgart 1969, pp. 199-205.
51. Koller, F.: Fibrinolyse. Schweiz. Med. Wschr. 44, 1233, 1966
52. Koller, F.: Zur Physiologie der Fibrinolyse; in Hiemeyer, V.: Therapeutische und experimentelle Fibrinolyse. F.K. Schattauer Stuttgart 1969, pp. 1-8
53. Kwaan, H.C., Mac Fadzean, A.J.: Inhibition of fibrinolysis in vivo by alimentary cholesterol. Nature 179, 260, 1957
54. Kwaan, H.C., Astrup, T.: Fibrinolytic activity in thrombosed veins. Circulat. Res. 17, 477, 1965
55. Kline, D.L., Fishman, L.B.: Proactivator function of human plasmin as shown by lysine esterase assay. J. biol. Chem. 236, 2807, 1961
56. Kline, D.L.: Interaction of streptokinase and plasminogen to form an streptokinase-plasmin activator of plasminogen. IX. Congr. Soc. Europ. haematol., Lissabon 1963
57. Laboratoriumsblätter für die medizinische Diagnostik. 4, Behringwerke 1969

58. Ladehoff, A.: The content of plasminogen activator in the human urinary tract. *Scand. J. clin. lab. Invest.* 12, 136, 1960
59. Lassen, M.: Heat denaturation of plasminogen in the fibrin plate method. *Acta physiol. scand.* 27, 371, 1952
60. Lassen, M.: The reaction between streptokinase and human plasma. *Acta chem. scand.* 13, 1332, 1959
61. Lassen, M.: Effect of streptokinase on human blood. *Conf. of Thrombolytic Agents Chicago 1960*, pp. 57-58
62. Loomis, E.: Fibrinolysin and antifibrinolysin. A proteolytic enzyme in blood. Blood clotting and allied problems. *Transaction of the 5th Conf., Josiah Macy, Jr. Foundation, 1952*, p. 280
63. Ludwig, H.: Thrombolyse durch Streptokinase. *Dtsch. med. Wschr.* 89, 1105, 1964
64. Mac Farlane, R.G., Biggs, R.: Fibrinolysis, its mechanism and significance. *Blood* 3, 1167, 1948
65. Martini, P.: *Methodenlehre der therapeutisch-klinischen Forschung.* Springer Berlin 1968, pp. 83-123
66. Marx, R.: Wirkungsweise der Fibrinolytica und Antifibrinolytika; in Zukschwerdt, L., Thies, H.A.: *Exp. u. therap. Fibrinolyse.* F.K. Schattauer Stuttgart 1963, pp. 27-40
67. Marx, R.: Hemmung exogen und endogen ausgelöster Fibrinolyse; in Hiemeyer, V.: *Therap. u. exp. Fibrinolyse.* F.K. Schattauer Stuttgart 1969, pp. 95-104
68. Meneghini, P.: Transfusion de plasma fibrinolytique dans le traitement de la thrombose. *Transact. 6th Congr. Europ. Soc. of Haemat. Copenhagen 1957*
69. Messer, D.L., Celander, D.R., Guest, M.M.: Stability of fibrin contiguous to intima of veins. *Circulat. Res.* 11, 832, 1962

70. Müllertz, S., Lassen, M.: An activator system in blood indispensable for the formation of plasmin by streptokinase. *Proc. Soc. exp. Biol., N.Y.*, 82, 264, 1953
71. Müllertz, S.: A plasminogen activator in spontaneously active human blood. *Proc. Soc. exp. Biol., N.Y.* 82, 291, 1953
72. Müllertz, S.: Components interacting in the formation activator in human blood. I. Intern. Tagung über Thrombose und Embolie, Basel 1954, B.Schwabe Basel 1955
73. Müllertz, S.: Formation and properties of the activator of plasminogen and of human and bovine plasmin. *Biochem. J.* 61, 424, 1955
74. Müllertz, S.: Activation of plasminogen. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 68, 38, 1957, pp. 38-71
75. Müllertz, S.: Chemistry of fibrinolysis; Theories of plasminogen activation. *Thromb. Diath. haemorrh. Suppl.* 1 ad Vol. VI, 142, 1960
76. Naegeli, Th., Mathis, P., Gross, R., Runge, H., Sachs, H. W.: Die thromboembolischen Erkrankungen. F.K. Schattauer Stuttgart 1960, pp. 450-467
77. Nilsson, I.M., Björkman, S.E., von Studnitz, W., Hallén, A: Antifibrinolytic activity of certain pectins. *Thromb. Diath. haemorrh.* 6, 177, 1961
78. Ogston, D., Fullerton, H.W.: Changes in fibrinolytic activity produced by physical activity. *Lancet* 2, 730, 1961
79. Quick, A.J.: Clinical interpretation of the one-stage prothrombin time. *Circulation* 24, 1422, 1962
80. Quick, A.J.: Haemorrhagic diseases and thrombosis. Lea & Febinger Philadelphia 1966, pp. 310-379
81. Fabiner, S.F.: The relationship of coagulation defects to haemorrhage in patients receiving anticoagulants. *Amer. J. med. Sci.* 249, 404, 1965

82. Reallexikon der Medizin. Urban & Schwarzenberg , München
Berlin Wien 1970, pp. F 89 - 92
83. Rife, U., Shulman, S.: Molecular changes in activation of
plasminogen. Fed. Proc. 19, 59, 1960
84. Pimon, S., Stupp, Y., Rimon, A.: Studies on the activation
of plasminogen. III. Insoluble derivatives of the proactivator
and the activator. Canad. J. Biochem. 44, 415, 1966
85. Robbins, K.C., Summaria, L., Hsieh, B., Shah, R.J.: The
peptide chains of human plasmin. Mechanism of activation of
human plasminogen to plasmin. J. biol. Chem. 242,(10), 2333,
1967
86. Sachs, L.: Statistische Auswertungsmethoden. Springer, Berlin-Heidelberg-New York 1968, pp. 75-115
87. Schimpf, K., Barth, P., Wüstemann, A.M.; Der Effekt von Fibrinogenspaltprodukten auf die Aktivität der Gerinnungsfaktoren II, V, VII, VIII, X im Plasma. Klin. Wschr. 49, 391, 1968
88. Schmutzler, R.: Indikation und praktische Durchführung der thrombolytischen Therapie; in Zuckschwerdt, L.; Thies, H.A.: Experimentelle und therapeutische Fibrinolyse. F.K.Schattauer Stuttgart 1963
89. Schorer, B.: Über die Standardisierung und Vereinfachung der Spontanpapierfibrinolyse (Eluatiionsmethode). Med. Diss. München 1970
90. Schwick, G.: Biochemie der Fibrinolyse. Behringwerk-Mitt. 44, 103, 1964
91. Schwick, H.G.: Biochemie der Fibrinolyse; in Künzer, W., Winkelmann, G., Walter, Ch.: Biologie des Plasmins, Purpura Schönlein-Henoch. F.K. Schattauer Stuttgart 1967, pp. 27-47
92. Schwick, H.G., Heimburger, N.: Biochemie der Fibrinolyse; in Hiemeyer, V.: Therapeutische und experimentelle Fibrinolyse. F.K. Schattauer Stuttgart 1969, pp. 9-26

93. Seligman, M., Gondeman, B., Jamin, A., Bernard, J., Grabar, P.: Etudes immunochimiques sur la présence de fibrinogène dans les extraits de plaquettes humaines lavées et dans certains extraits leucocytaires. *Rev. Haemat.* 12, 302, 1957
94. Sherry, S.: The fibrinolytic activity of streptokinase activated human plasmin. *J.clin. Invest.* 33, 1054; 1954
95. Sherry, S., Alkjaersig, N.: Studies on the activation of human plasminogen. *J. clin. Invest.* 35, 735, 1956
96. Sherry, S., Alkjaersig, N.: Studies on the fibrinolytic enzyme of human plasma. *Thromb. Diath. haemorrh.* 1, 264, 1957
97. Sherry, S., Lindemeyer, R.J., Fletcher, A.P., Alkjaersig, N.: Studies on the enhanced fibrinolytic activity in man. *J. clin. Invest.* 38, 810, 1959
98. Sherry, S., Fletcher, A.P., Alkjaersig, N.: Fibrinolysis and fibrinolytic activity in man. *Physiol. Rev.* 39, 343, 1959
99. Shulman, S., Alkjaersig, N., Cherry, S.: Physicochemical studies on human plasminogen and plasmin. *J. biol. Chem.* 233, 91, 1958
100. Sipos, J.: Zur Methode der Spontanpapierfibrinolyse. *Med. Diss. München* 1967
101. Spöttl, F.: Die Bestimmung des Proaktivators des fibrinolytischen Systems mit einer quantitativen kaseinolytischen Methode. *Thromb. Diath. haemorrh.* 18, 393, 1967
102. Spöttl, F., Constantini, R.: Die Bedeutung des Proaktivators im fibrinolytischen Fermentsystem. *Thromb. Diath. haemorrh.* 18, 416, 1967
103. Stamm, H.: Einführung in die Klinik der Fibrinolyse. S. Karger Basel 1962, pp. 1-103
104. Stamm, H.: Therapeutische Fibrinolyse und Thrombolyse; in Zuckschwerdt, L., Thies, H.A.: Experimentelle und therap. Fibrinolyse. F.K.Schattauer Stuttgart 1963, pp. 197-201

105. Thiess, H.A.: Postoperative Fibrinolyse. A.Barth Leipzig 1960, pp. 1-50
106. Tillet, W.S., Garner, R.L.: The fibrinolytic activity of haemolytic streptococci. J. exp. Med. 58, 485, 1933
107. Tillet, W.S.: The occurrence of antifibrinolytic properties in the blood of patients with acute haemolytic streptococcus infection. J. clin. Invest. 14, 276, 1935
108. Tillet, W.S.; Johnson, A.S., Mc Carty, S., Ross, W.: The intravenous infusion of the streptococcal fibrinolytic principle (streptokinase) into patients. J. clin. Invest. 34, 169, 1955
109. Weber, E.: Grundriß der biologischen Statistik. G. Fischer Stuttgart 1967, pp. 64-133
110. Witte, E.: Beziehungen der Fibrinolyse zum Gerinnungsmechanismus; in Hiemeyer, V.: Therap. und exp. Fibrinolyse. F.K. Schattauer Stuttgart 1970, pp. 64-74
111. Witte, S.: Konservatives Vorgehen bei arteriellen Verschlüssen; in Marx, R.: Thrombose und Embolie. F.K.Schattauer Stuttgart 1970, p. 191
112. Winkelmann, G., Meyer, G., Roskamm, H.: Der Einfluß körperlicher Belastung auf die Blutgerinnung und Fibrinolyse bei untrainierten Personen und Hochleistungssportlern. Klin. Wschr, 46, 712, 1968
113. Winkelmann, G.: Die thrombolytische Behandlung der Lungenembolie; in Marx, R.: Thrombose und Embolie. F.K.Schattauer Stuttgart 1970, p. 246
114. Zantl, H.: Fibrinolysebestimmungsmethoden und Fibrinolyseaktivierung durch Heparin und Nikotinsäure. Med. Diss. München 1966
115. Zollinger, W., Hitzig, W.H.: Erworbene Hypofibrinogenämie bei Paraleukoplastenleukämie mit Kälteagglutinine im Kindesalter. Schweiz. Med. Wschr. 89, 1032, 1959
116. Zönnchen, B.: Untersuchungen humoraler Veränderungen bei Streptokinasetherapie. Med. Diss. München 1968

Lebenslauf

Am 23. November 1946 wurde ich, Barbara Philippine Beitingner als 3. Kind des praktischen Arztes Dr.med. Alois Beitingner und seiner Frau Margarete, geb. Martin, in Brannenburg/ Inn geboren.

In München besuchte ich von 1952 - 1956 die Volksschule, von 1956 - 1959 das Realgymnasium an der Luisenstraße. 1960 zogen wir nach Ingolstadt / Donau. Dort besuchte ich von 1960 - 1966 das Humanistische Gymnasium und legte 1966 die Reifeprüfung ab. Vom Wintersemester 1966 / 67 bis zum Sommersemester 1972 studierte ich in München Medizin, bestand im Oktober 1967 die naturwissenschaftliche, im März 1969 die ärztliche Vorprüfung und im Februar 1973 das Staatsexamen.

